

FEHLERBETRACHTUNG UND OPTIMIERUNG VON
AUSWERTEMETHODEN IN DER UV-SPEKTROSKOPIE

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

des

Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

Ursula Steffens

aus Köln

Marburg 1977

FEHLERBETRACHTUNG UND OPTIMIERUNG VON
AUSWERTEMETHODEN IN DER UV-SPEKTROSKOPIE

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

des

Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

Ursula Steffens

aus Köln

Marburg 1977



Vom Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

als Dissertation angenommen am:	14.12.1977
Tag der mündlichen Prüfung:	14.12.1977
Berichterstatter:	Prof.Dr. S. Ebel
Mitberichterstatter:	Prof.Dr. G. Stork

Die vorliegende Arbeit entstand im Institut für Pharmazeutische Chemie des Fachbereiches Pharmazie und Lebensmittelchemie der Philipps-Universität Marburg/Lahn auf Anregung und unter Anleitung von Herrn Professor Dr. Siegfried Ebel.

Für alle Hilfe, jegliche Unterstützung und die äußerst fruchtbare Zusammenarbeit im Arbeitskreis möchte ich mich an dieser Stelle sehr herzlich bedanken.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1 Überblick	1
1.2 Prinzip der UV-Messung	1
1.3 Einführung in die Problematik einer mathematischen Auswertung	4
2. Mathematische Konzepte zur Lösung einer Mehrkomponenten-Analyse	6
2.1 Bestimmtes Gleichungssystem	6
2.1.1 Prinzip der Auswertung	6
2.1.2 Fehlerbetrachtung	7
2.2 Überbestimmtes Gleichungssystem	8
2.2.1 Prinzip der Auswertung	8
2.2.2 Fehlerbetrachtung	10
2.3 Zweidimensionale Überbestimmung	11
2.3.1 Prinzip	11
2.4 Aufzeigen der Problematik an Hand von Beispielen	12
3. Berechnung des Extinktionsfehlers	15
3.1 Bisher aufgestellte Fehlerfunktionen	15
3.1.1 Herleitung der Fehlerfunktion nach Weitkamp und Barth	17
3.1.2 Änderung der Funktion - eigene Ansätze	21
3.2 Erweiterung der Funktion	23
3.3 Experimentelle Belegung der Funktion	24
3.4 Fehlerfortpflanzung des Extinktionsfehlers in die Konzentration - Einkomponenten-Analyse	26

	Seite
4. Konsequenzen aus der Fehlerfunktion für eine Einkomponenten-Analyse	28
4.1 Fehlerbetrachtung für Konzentrationsbestimmungen an einer Wellenlänge	29
4.2 Fehlerbetrachtung für eine endliche Zahl von Meßpunkten	30
4.3 Vergleichende Fehlerbetrachtung	31
4.4 Beispiel einer Einkomponenten-Analyse	34
5. Problematik der Zweikomponenten-Analyse	39
5.1 Bestimmtes Gleichungssystem	39
5.1.1 Maxima als Meßpunkte	39
5.1.2 Selektivität	40
5.1.3 Selektivitätsprodukt	41
5.1.4 Determinante	42
5.1.5 Vergleich Determinante - Selektivitätsprodukt	45
5.1.6 Kondition der Matrix	47
5.1.6.1 Inverse Matrix	47
5.1.6.2 Einflüsse von Fehlern in der Eichmatrix auf die Inverse	48
5.1.6.3 Einflüsse von Fehlern in der Eichmatrix auf den Lösungsvektor	50
5.1.6.4 Verschiedene Arten der Matrixkonditionierung	51
5.1.7 Vergleich Determinante - Konditionszahl	57
5.1.8 Diskussion der Ergebnisse an Hand von Beispielen	58
5.1.8.1 Coffein - Phenacetin	62
5.1.8.2 ASAN - Aspirin	63
5.2 Bestimmung von Nebenkomponten	63
5.2.1 Fortpflanzung von Fehlern in den Analysendaten	64

	Seite
5.3 Überbestimmte Gleichungssysteme	66
5.3.1 Güte der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Zahl der Meßpunkte	66
5.3.2 Optimierungsverfahren DIFF PAR 9	72
5.3.2.1 Beurteilung der Dreipunktauswertung	78
5.3.3 Optimierungsverfahren FEHLFORT DE	82
5.3.3.1 Beurteilung der Dreipunktauswertung	85
5.4 Ergebnisse von Dreipunktauswertungen - einige Beispiele	85
6. Analytik einer Arzneimittelzubereitung	94
7. Schlußbetrachtungen	96
7.1 Zusammenfassung	96
7.2 Ausblick	97
8. Anhang	98
8.1 Meßsysteme	98
8.1.1 Zeiss PMQ II	98
8.1.2 PE 124	98
8.1.3 PE 575	99
8.2 Klüvetten- Substanzen - Lösungsmittel	100
8.3 Programmbeschreibungen	102
8.3.1 Programm DIFF PAR 9	102
8.3.2 Programm FEHLFORT DE	115
8.3.3 Programm STEUERUNG	119
Zeichenerklärung	128
Literaturverzeichnis	130

1. Einleitung

1.1 Überblick

Die quantitative Bestimmung mehrerer Substanzen mit Hilfe spektroskopischer Methoden ist ein altes, in der Routineanalytik häufig angewendetes Verfahren. In der pharmazeutischen Analytik ermöglicht vor allem die quantitative UV-Spektroskopie eine einfache und oftmals auch exakte Bestimmung der therapeutisch relevanten Substanzen *).

Vorteil der Methode ist, daß aufwendige Trennverfahren oder Derivatisierungen, wie sie bei vielen anderen Analysenmethoden vor der Bestimmung der Komponenten eines Arzneimittels erforderlich sind, sich erübrigen. Vielmehr können die verschiedenen Komponenten direkt aus einer Lösung bestimmt werden. Voraussetzung ist jedoch, daß das Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz gilt, daß sich das resultierende Summenspektrum additiv aus den Spektren der Einzelkomponenten zusammensetzt (R.C. Hirt, F.T. King, R.C. Schmitt, 1954; J.D. Fitzpatrick, U. Orchin, 1957; E. Pillion, M.R. Rogers, A.M. Kaplan, 1961), und daß die Matrix der Analyse keine oder aber eliminierbare Störungen verursacht.

Da diese Forderungen in der Regel erfüllt sind bzw. erfüllt werden können, bietet sich die quantitative UV-Analytik von Mehrkomponentengemischen in vielen Fällen als Methode der Wahl an.

1.2 Prinzip der UV-Messung

Die Absorption einer Strahlung, die eine Probenlösung durchsetzt, ist durch das Verhältnis von durchgelassener zu eingestrahelter Lichtintensität gegeben. Sie hängt nach dem Gesetz von Lambert-Beer exponentiell von der Schichtdicke der untersuchten Probe und ihrer molaren Konzentration ab:

*) J. Kráčmar und J. Kráčmarova (1971) geben eine ausführliche Übersicht über die Anwendung der quantitativen UV-Spektroskopie in der Pharmazie.

$$\frac{I}{I_0} = e^{-\epsilon \cdot c \cdot d}$$

I = Intensität des durchgelassenen Lichtes

I_0 = Intensität des eingestrahnten Lichtes

ϵ = molarer Extinktionskoeffizient

c = molare Konzentration

d = Schichttiefe

Die Messung der Lichtintensität erfolgt nach dem in Abbildung 1 gezeigten Prinzip. Aus dem (kontinuierlichen) Spektrum einer Lichtquelle (A) wird mit Hilfe eines Monochromators (B) ein schmales Wellenlängenband ausgesondert. Die Breite des Wellenlängenbandes, das den Monochromator verläßt, wird durch die Auflösung des Monochromators und durch die Breite des Austrittsspalt bestimmt. Das Licht, das die Meßlösung durchstrahlt, gelang auf den Detektor (E), das Ausgangssignal wird verstärkt und als Endsignal zur Anzeige gebracht (G).

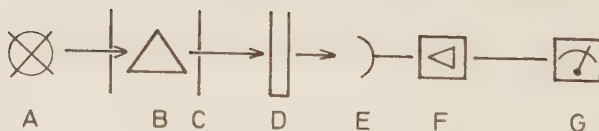


Abb.1: Prinzip der UV-Messung (Einstrahlgerät).

A - Lichtquelle

B - Monochromator

C - Austrittsspalt

D - Küvette mit Meßlösung

E - Detektor (z.B. Photomultiplier)

F - Verstärker

G - Anzeigegerät oder Schreiber

Die Messung der Intensität des eingestrahnten Lichtes (I_0) erfolgt entweder zeitlich getrennt von der Messung der Probenintensität (Einstrahlgerät, Abb.1) oder gleichzeitig mit der Messung der Probenintensität (Zweistrahlgert, Abb.2).

Die verschiedenen Meßprinzipien bedingen einen unterschiedlichen Geräteaufbau. Der Aufbau eines Zweistrahlgertes entspricht folgendem Schema :

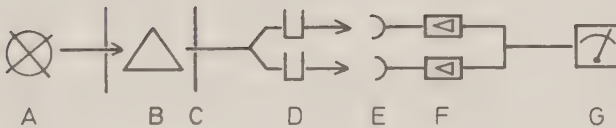


Abb.2: Meßprinzip eines Zweistrahlgertes.

Die Signale von I_0 und I werden bei diesem Meßprinzip gleichzeitig erhalten. Es ergibt sich - nach logarithmischer Wandlung und Differenzbildung der Signale - als Meßgröße die Extinktion.

Bei Einstrahlgeräten erfolgt die Messung der Intensitäten I_0 und I zeitlich voneinander getrennt. Das Signal I_0 wird dazu benutzt, die Skala des Anzeigegegerätes auf Transmission 100 % einzustellen, so daß sich aus dem Signal I direkt die prozentuale Transmission der Probe ergibt.

1.3 Einführung in die Problematik einer mathematischen Auswertung

Neben verschiedenen Auswerteverfahren (M.Pernarowski, A.M.Knevel, J.E. Christian, 1961; C.F.Hiskey, 1961; G.Machek, F.Lorenz, 1962, 1963, 1964 u. 1966; A.W.Clayton, R.E.Thiers, 1966; M.J.Cho, M.Pernarowski, 1970; A.M.Wahbi, 1971; J.B.Stenlake, A.G.Davidson, 1973; A.M.Wahbi, S.Ebel, U.Steffens, 1975; T.Honkawa, 1975 u. 1976; S.Shibata, 1976; S.Ebel, 1977) werden zur Lösung eines UV-Mehrkomponentensystems als analytische Aufgabe prinzipiell zwei Wege beschritten (R.P.Baumann, 1959; A.L.Glenn, 1960; B.Klabuhn, M.Kuck, H.Goetz, 1973), [Heilmeyer, 1943]:

1. Ermittlung der gesuchten Konzentration mit Hilfe eines bestimmten Gleichungssystems, d.h. zur Bestimmung von N Komponenten werden die Eichspektren und das Analysenspektrum an N Wellenlängen vermessen.
2. Ermittlung der gesuchten Konzentration mit Hilfe eines überbestimmten Gleichungssystems, d.h. die Spektren werden in ihrem gesamten Verlauf zur Auswertung herangezogen, so daß die Zahl der Meßpunkte die Zahl der Komponenten übersteigt.

Beide Lösungsmöglichkeiten haben Vor- und Nachteile. Methode 1 benötigt nur wenige Meßpunkte, erfordert also nur einen geringen Meßaufwand; sie zeigt jedoch eine große Fehleranfälligkeit der numerischen Lösung des zugrundeliegenden Gleichungssystems. Bei Überbestimmung des Problems (Methode 2) steht ein erheblicher Meßaufwand einer geringeren Fehleranfälligkeit gegenüber; diese Auswertung soll in der Regel zu befriedigenden Ergebnissen führen.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Fehleranfälligkeit der genannten Auswerteverfahren zu diskutieren und darüberhinaus die Vorteile beider Methoden miteinander zu verknüpfen; d.h. den Meßaufwand weitestgehend zu reduzieren, ohne daß die Analyseergebnisse schlechter werden.

Zur Erreichung dieses Zieles sollen zwei Wege beschritten werden :

1. Die redundanten Messungen im überbestimmten System werden reduziert auf möglichst wenige, als optimal erkannte Meßpunkte.
2. Die Messung wird präzisiert und erleichtert durch ein vollautomatisches rechnergesteuertes UV-Photometer.

In der Literatur finden sich einige Bemühungen, UV-Messungen zu optimieren (A. Junker, G. Bergmann, 1974 u. 1976) und Fehler, die bei Extinktionsmessungen und Analysenergebnissen auftreten, nach mathematischen Kriterien zu formulieren (G.H. Ayres, 1949; H.L. Pardue, T.E. Hewitt, U.J. Milano, 1974; B. Unterhalt, A.M. Wahbi, 1975), [E.T. Whittaker, G. Robinson, 1924]. Die Ergebnisse dieser Bemühungen fallen sehr unterschiedlich aus. Zum Teil ist zur Festlegung optimaler Arbeitsbedingungen ein erheblicher Rechenaufwand erforderlich.

Die hier vorgestellten Optimierungsverfahren gehen von einer neuen mathematischen Formulierung des Extinktionsfehlers aus, die es ermöglicht, auf einfachem Wege ein gerade noch überbestimmtes Gleichungssystem zu finden, das eine geringe Fehleranfälligkeit aufweist und deswegen optimale Lösungen verspricht. Die Festlegung der Meßpunkte erfolgt nach mathematischen Kriterien und ist in ihrer Objektivität der Meßstellenauswahl durch den Spektroskopiker überlegen.

2. Mathematische Konzepte zur Lösung einer Mehrkomponentenanalyse

2.1 Bestimmtes Gleichungssystem

2.1.1 Prinzip der Auswertung

Zur eindeutigen Bestimmung von N Komponenten sind N lineare unabhängige Gleichungen notwendig und hinreichend. Die Einzelspektren und das Analysenspektrum werden an N Wellenlängen vermessen. Es resultiert ein Gleichungssystem, das ohne großen Rechenaufwand zu lösen ist (z.B. mit Hilfe der Cramerregel).

$$\begin{array}{rcl}
 c_{a,A} \cdot \alpha_1 + c_{a,B} \cdot \beta_1 + c_{a,C} \cdot \gamma_1 + \dots + c_{a,N} & = & E_{a1} \\
 c_{a,A} \cdot \alpha_2 + c_{a,B} \cdot \beta_2 + \dots & = & E_{a2} \quad (1) \\
 \vdots & & \vdots \\
 c_{a,A} \cdot \alpha_m + c_{a,B} \cdot \beta_m + \dots & = & E_{am} \\
 & & m = N
 \end{array}$$

In diesem Gleichungssystem bedeuten :

$c_{a,A} ; c_{a,B} ; c_{a,C} \dots$	gesuchte Konzentration der Substanz A, B, C ...
$\alpha_i ; \beta_i ; \gamma_i \dots$	Extinktionskoeffizient der Substanz A, B, C ... an der Meßwellenlänge λ_i
$E_{a1} ; E_{a2} \dots$	Extinktion der Analyse an der Wellenlänge $\lambda_1, \lambda_2 \dots$

Allgemein kann man das Gleichungssystem (1) vereinfacht schreiben :

$$\begin{array}{c}
 \overbrace{c_{a,S} \epsilon_{S,i}}^N = E_{ai} \\
 S=A
 \end{array} \quad (2)$$

$i = 1 \text{ bis } N$

Laufindices : S: Substanzen (A, B, C ... N)
i: Wellenlängen (1, 2, 3 ... m)

Für eine Zweikomponentenanalyse - auf solche beschränkt sich diese Arbeit *) - ergibt sich die Lösung dieses bestimmten linearen Gleichungssystems zu:

$$c_{a,A} = \frac{E_{a1} \beta_2 - E_{a2} \beta_1}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} \quad (3)$$

$$c_{a,B} = \frac{E_{a2} \beta_1 - E_{a1} \beta_2}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} \quad (3a)$$

2.1.2 Fehlerbetrachtung

Alle in den Quotienten (3) und (3a) auftretenden Parameter sind Meßgrößen und als solche mit Fehlern behaftet. Aus dieser Tatsache resultieren im gesuchten Ergebnis $c_{a,A}$ und $c_{a,B}$ Unschärfen, deren Betrag abhängig ist vom Fehlerbetrag des Zählers und des Nenners.

Der Fehler des Nenners wird ausschließlich bestimmt durch die Fehler, die in der Eichmatrix $\epsilon_{S,i}$ eingefroren sind, während der Fehler des jeweiligen Zählers zusätzlich von den Extinktionsfehlern der Analyse abhängt.

Die Einbeziehung aller auftretenden Extinktionsfehler $\varphi \epsilon_i$ in (3) und (3a) führt zu sehr komplexen Ausdrücken. Für die Substanz A ergibt sich:

$$c_{a,A}^* = \frac{E_{a1} \beta_2 - E_{a2} \beta_1 + \varphi E_{a1} \varphi \beta_2 + \varphi E_{a1} \beta_2 + \varphi \beta_2 E_{a1}}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1 + \varphi \alpha_1 \varphi \beta_2 + \alpha_1 \varphi \beta_2 + \varphi \alpha_1 \beta_2 - \varphi \alpha_2 \varphi \beta_1} \dots$$

$$\dots \frac{-E_{a2} \varphi \beta_1 - \varphi E_{a2} \beta_1 - \varphi E_{a2} \varphi \beta_1}{-\alpha_2 \varphi \beta_1 - \varphi \alpha_2 \beta_1} \quad (4)$$

Damit wird es möglich, die Unschärfe in den Ergebniskonzentrationen zunächst theoretisch zu erfassen. Sie ergibt sich als Differenz zwischen (3) und (4).

Allerdings ist diese Formulierung mathematisch nicht ganz exakt.

Sehr einfach gestaltet sich die Fehlerbetrachtung, wenn man davon ausgeht, daß die Fehler in der Eichmatrix auf vernachlässigbar kleine Beträge zu reduzieren sind (dies ist z.B. durch Wiederholungs- und Zusatzmessungen (H. Sattler, 1965))

*) Die in dieser Arbeit vorgestellten Methoden sollten prinzipiell auch auf Dreikomponentensysteme anwendbar sein.

zu verwirklichen (siehe 2.3). Es gelingt dann, das Ergebnis in zwei Terme aufzuspalten :

$$c_{a,A} = \frac{E_{a1} \beta_2 - E_{a2} \beta_1}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} + \frac{\varphi E_{a1} \beta_2 - \varphi E_{a2} \beta_1}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} \quad (5)$$

$$c_{a,B} = \frac{E_{a2} \alpha_1 - E_{a1} \alpha_2}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} + \frac{\varphi E_{a2} \alpha_1 - \varphi E_{a1} \alpha_2}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} \quad (5a)$$

Die Unschärfe in den Ergebniskonzentrationen ergibt sich daraus zu :

$$\sigma_{c_{a,A}} = \frac{\varphi E_{a1} \beta_2 - \varphi E_{a2} \beta_1}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} \quad (6)$$

$$\sigma_{c_{a,B}} = \frac{\varphi E_{a2} \alpha_1 - \varphi E_{a1} \alpha_2}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} \quad (6a)$$

und ist somit auf einfache Weise theoretisch zu erfassen. Praktisch ist dies - in beiden Fällen - jedoch nur dann möglich, wenn die möglichen Extinktionsfehler formuliert werden können und numerisch bekannt sind.

2.2 Überbestimmtes Gleichungssystem

2.2.1 Prinzip der Auswertung

Die Eichspektren und das Analysenspektrum werden über einen größeren Wellenlängenbereich vermessen, so daß die Zahl der Meßpunkte die Zahl der Komponenten übersteigt. Das Problem ist damit überbestimmt.

$$\begin{aligned} \overbrace{c_{a,S}}^N \cdot \epsilon_{S,1} &= E_{a1} \\ \overbrace{c_{a,S}} \cdot \epsilon_{S,2} &= E_{a2} \\ \vdots &\vdots \\ \overbrace{c_{a,S}} \cdot \epsilon_{S,m} &= E_{am} \end{aligned} \quad (7)$$

$m > N$

Derartige überbestimmte Gleichungssysteme werden mit Hilfe der Ausgleichsrechnung gelöst, der ein Minimierungsprinzip (Methode der kleinsten Fehlerquadratsummen) zugrunde liegt, d.h. die gesuchten Konzentrationen $c_{a,S}$ werden so bestimmt, daß die Fehlerquadratsumme F minimal wird.

$$F = \sum_{i=1}^m \left(\sum_{S=A}^N \frac{c_{a,S}}{S} \cdot \epsilon_{S,i} - E_{ai} \right)^2 \stackrel{!}{=} \min$$

Durch partielles Differenzieren (8) nach den einzelnen Unbekannten $c_{a,S}$ ergibt sich das zur Lösung führende lineare Gleichungssystem.

$$\frac{\partial F}{\partial c_{a,A}} = \frac{\partial F}{\partial c_{a,B}} = \dots = \frac{\partial F}{\partial c_{a,N}} = 0 \quad (8)$$

Für ein Zweikomponentensystem ($N=2$) ergibt sich das Gleichungssystem (9) :

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^m \alpha_i^2 \cdot c_{a,A} + \sum_{i=1}^m \alpha_i \beta_i \cdot c_{a,B} &= \sum_{i=1}^m E_{ai} \cdot \alpha_i \\ \sum_{i=1}^m \alpha_i \beta_i \cdot c_{a,A} + \sum_{i=1}^m \beta_i^2 \cdot c_{a,B} &= \sum_{i=1}^m E_{ai} \cdot \beta_i \end{aligned} \quad (9)$$

oder geordnet nach den Komponenten des Lösungsvektors :

$$\begin{vmatrix} \sum_{i=1}^m \alpha_i^2 & \sum_{i=1}^m \alpha_i \beta_i \\ \sum_{i=1}^m \alpha_i \beta_i & \sum_{i=1}^m \beta_i^2 \end{vmatrix} \cdot \begin{vmatrix} c_{a,A} \\ c_{a,B} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \sum_{i=1}^m E_{ai} \alpha_i \\ \sum_{i=1}^m E_{ai} \beta_i \end{vmatrix} \quad (9a)$$

bzw. in Matrixschreibweise

$$\mathbf{S} \cdot \mathbf{c} = \mathbf{a}$$

Der Lösungsvektor dieses aus der Fehlerrechnung resultierenden Gleichungssystems liefert die wahrscheinlichsten Werte für die gesuchten Konzentrationen und ergibt sich entweder durch Anwendung der Cramerregel auf Gleichungssystem (9a) oder über die Inverse zu :

$$\mathbf{c} = \mathbf{S}^{-1} \cdot \mathbf{a}$$

$\mathbf{c}$ = Lösungsvektor (Konzentrationsvektor)

$\mathbf{a}$ = rechte Seite des Gleichungssystems (Analysenvektor)

$\mathbf{S}$ = Stammdatenmatrix

$\mathbf{S}^{-1}$ = inverse Stammdatenmatrix *)

2.2.2 Fehlerbetrachtung

Die Fehler, die im Ergebnisvektor enthalten sind, sind sehr viel komplexer als beim bestimmten Gleichungssystem. Durch jede redundante Messung werden bei einer Zweikomponentenanalyse drei weitere fehlerbehaftete Extinktionen in die Auswertung einbezogen.

Formuliert man Gleichungssystem (9a) mit nur einem Fehler, z.B. Fehler φ_{α_k} im Element α_k , so ergibt sich folgende Änderung :

$$\begin{vmatrix} \sum \alpha_i^2 + 2 \varphi_{\alpha_k} \cdot \alpha_k + \varphi_{\alpha_k}^2 & \sum \alpha_i \beta_i + \varphi_{\alpha_k} \beta_k \\ \sum \alpha_i \beta_i + \varphi_{\alpha_k} \beta_k & \sum \beta_i^2 \end{vmatrix} \cdot \begin{vmatrix} c_{a,A} \\ c_{a,B} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \sum \alpha_i E_{ai} + \varphi_{\alpha_k} \cdot E_{ai} \\ \sum \beta_i E_{ai} \end{vmatrix} \quad (10)$$

Eine allgemeine Formulierung unter Berücksichtigung der Fehler in allen Elementen ergibt folgende Gleichung :

$$(\mathbf{S} + \varphi \mathbf{S}) \cdot \mathbf{c} = \mathbf{a} + \varphi \mathbf{a}$$

mit der Lösung

$$\mathbf{c} = (\mathbf{S} + \varphi \mathbf{S})^{-1} (\mathbf{a} + \varphi \mathbf{a})$$

$$\mathbf{c} = (\mathbf{S} + \varphi \mathbf{S})^{-1} \cdot \mathbf{a} + (\mathbf{S} + \varphi \mathbf{S})^{-1} \cdot \varphi \mathbf{a}$$

*) Die Bildung der Inversen $\mathbf{S}^{-1}$ der Eichmatrix sowie alle anderen zur Auswertung herangezogenen Matrixoperationen erfolgen auf dem Tischrechner HP 9830 A (6K-Memory) durch einfache Programmierbefehle automatisch mit Hilfe des Matrix - ROM HP 11270 B .

MAT $\mathbf{A}$ = INV ($\mathbf{A}$) invertiert die Matrix $\mathbf{A}$ und speichert sie im ursprünglichen Feld (array) wieder ab.

MAT $\mathbf{A}$ = $\mathbf{B} * \mathbf{C}$ multipliziert die Matrix $\mathbf{B}$ von links mit der Matrix $\mathbf{C}$ und speichert das Ergebnis in die Matrix $\mathbf{A}$.

Vernachlässigt man auch hier - wie bei Gleichung (5) und (5a) - die Fehler in der Eichmatrix,, vereinfacht sich der Ausdruck zu

$$\mathbf{a} = \mathbf{S}^{-1} \cdot \mathbf{a} + \mathbf{S}^{-1} \cdot \varphi \mathbf{a}$$

Damit ist auch hier wieder - bei Kenntnis des Fehlervektors $\varphi \mathbf{a}$ - eine Berechnung der Konzentrationsunschärfen möglich.

2.3 Zweidimensionale Überbestimmung

2.3.1 Prinzip

Eine Verfeinerung des Auswerteverfahrens ist die zweidimensionale Überbestimmung. Die zufälligen und systematischen Fehler der Eichmatrix und des Analysenvektors sollten durch Zusatzmessungen bei verschiedenen Konzentrationen und durch Wiederholungsmessungen weitgehend eliminiert bzw. reduziert werden.

Die Erstellung der Eichmatrix macht bei N Komponenten, m Meßwellenlängen und n_E Überbestimmung jeder Eichdate $N \cdot m \cdot n_E$ Messungen notwendig. Es sind $N \cdot m$ lineare Regressionen über n_E Punkte notwendig, die die wahrscheinlichsten Eichdaten im Sinne der Gaußschen Fehlertheorie liefern. Die Qualität der Eichmatrix - und damit die Güte der Ergebnisse - soll verbessert werden, jedoch steigt der Meßaufwand erheblich.

Eine weitere Qualitätssteigerung der Eichmatrix sollte man durch einen gewichteten Fehlerausgleich erreichen. Die Meßwerte, die sich aus den verschiedenen Konzentrationen ergeben, finden dabei nicht gleichermaßen, sondern ihrer Präzision entsprechend Eingang in die Fehlerrechnung.

Diese Methode setzt wieder - wie bei den anderen beschriebenen Methoden (2.1 und 2.2) - Kenntnis des Extinktionsfehlers voraus, der als Wichtungsfaktor herangezogen werden kann.

2.4 Aufzeigen der Problematik an Hand von Beispielen

An Hand von zwei pharmazeutisch relevanten Beispielen soll zunächst einmal die anstehende Problematik mit experimentellen Ergebnissen aufgezeigt werden. In beiden Fällen handelt es sich um eine Zweikomponentenanalyse. Es werden dabei zunächst beliebige Wellenlängen herausgegriffen und zwar

- a) zwei Meßpunkte, d.h. die Auswertung erfolgt über ein bestimmtes lineares Gleichungssystem,
- b) drei bis vier Meßpunkte, d.h. die Auswertung erfolgt über ein nur geringfügig überbestimmtes Gleichungssystem,
- c) viele Meßpunkte, d.h. die Auswertung erfolgt über ein stärker überbestimmtes Gleichungssystem.

Die Tabellen 1 und 2 zeigen Ergebnisse, die nach den verschiedenen Auswerteverfahren gewonnen wurden. Alle Ergebnisse wurden aus demselben Datenmaterial erstellt, variiert wurden also nur Lage und Zahl der Meßpunkte, d.h. die Ergebnisse sind unmittelbar vergleichbar.

Zahl der Wellenlängen	Wellenlängen [nm]	Sulfadiazin $\bar{x}$ *) s rel [%]		Trimethoprim $\bar{x}$ s rel [%]	
2	224 228	105,02	3,27	86,42	12,24 !
2	224 248	100,55	0,34	100,32	0,98
2	224 276	106,09	3,29	85,89	9,54 !
4	228,252,280,312	100,21	0,43	100,33	1,00
4	236,260,288,320	100,26	0,84	98,72	3,29
9	224 bis 320 **)	100,12	0,55	99,86	1,21
26	224 bis 324	100,24	0,61	99,76	1,27

Tabelle 1: Bestimmung von Sulfadiazin und Trimethoprim.

Konzentration: S: 1,0 mg/100 ml

T: 0,2 mg/100 ml

Lösungsmittel: 0,1 n HCl

Spektralphotometer: PMQ II Zeiss

Zahl der Analysen: 16

*) Der Übersichtlichkeit halber sind in dieser Arbeit alle Ergebnisse in % des Sollwertes angegeben.

**) in äquidistanten Abständen

Zahl der Wellenlängen	Wellenlängen [nm]		Pentobarbital		Methaqualon	
			$\bar{x}$	s rel [%]	$\bar{x}$	s rel [%]
2	240	268	99,36	0,98	99,64	0,35
2	240	252	14,98	336	202,4	228 !
2	242	276	99,35	0,20	99,42	0,34
3	242, 254, 260		100,59	0,22	99,69	0,32
10	242 bis 278 *)		99,05	0,17	99,28	0,24
21	240 bis 280		99,18	0,30	99,18	0,24

*) in äquidistanten Abständen

Tabelle 2: Bestimmung von Pentobarbital und Methaqualon.

Konzentration: P: 5,5 mg/100 ml

M: 2,0 mg/100 ml

Lösungsmittel: Methanol - 0,5 n NaOH (9:1)

Spektralphotometer: PE 124

Zahl der Analysen: 16

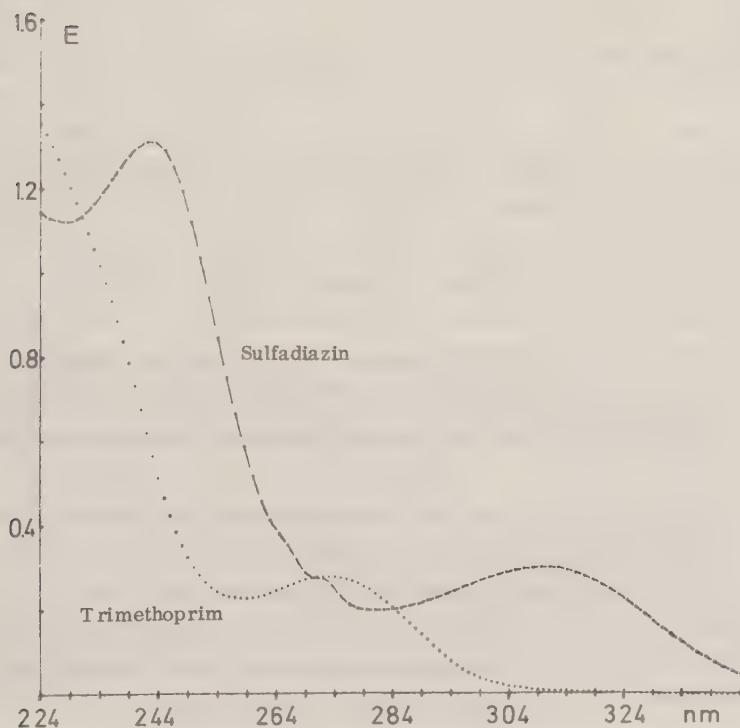


Abb.3: UV-Spektren Sulfadiazin, Trimethoprim (näheres s. Tab. 1).

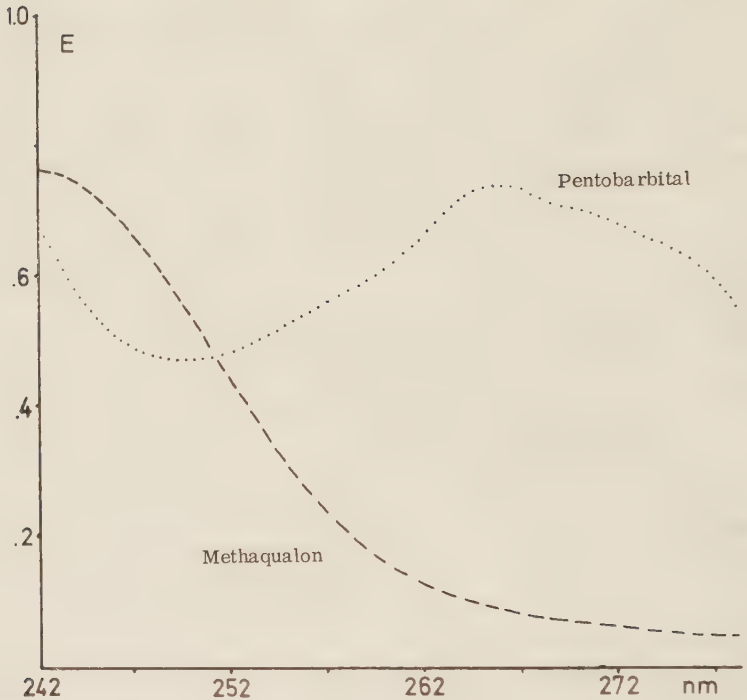


Abb.4: UV-Spektren Pentobarbital, Methaqualon (näheres s. Tab.2).

Bereits diese zunächst willkürlich ausgewählten Beispiele zeigen, daß die in der Literatur immer wieder zu findende Aussage - eine Erhöhung der Meßpunktzahl führt zu einer Verbesserung des Ergebnisses - nicht stimmen kann. Die erhebliche Streuung der Ergebnisse - von sehr gut bis unsinnig - wirft vielmehr folgende Fragen auf:

1. Nach welchen Kriterien soll die Lage der Meßpunkte ausgewählt werden ?
2. Ist eine Überbestimmung des Problems notwendig ?
3. Wie groß muß dann die Zahl der redundanten Messungen sein ?

Eine wesentliche Voraussetzung zur Beantwortung dieser Fragen ist die Erfassung des Fehlers, der bei jeder Extinktionsmessung auftritt. Es soll daher zunächst versucht werden, diesen Extinktionsfehler numerisch zu bestimmen.

3. Berechnung des Extinktionsfehlers

3.1 Bisher aufgestellte Fehlerfunktionen

Der bei einer UV-spektroskopischen Konzentrationsmessung auftretende Fehler ist eine Größe, die aus den Einzelfehlern der Parameter im Lambert-Beerschen Gesetz resultiert. Weitkamp und Barth untersuchten 1976 den Anteil jedes Einzelfehlers am Gesamtfehler und stellten fest, daß der Fehler in der Probenvorbereitung (Einwaage- und Volumenfehler) und der Fehler in der Schichttiefe der Küvette am Gesamtfehler nur einen geringen Anteil haben, gemessen am Fehler in der Extinktionsmessung *).

Zahlreiche Autoren befassen sich mit der Präzision von Extinktionsmessungen und die Frage der Meßintensität und Meßbedingungen ist in der Literatur mit großer Breite diskutiert worden (H. v. Halban, J. Eisenbrand, 1927; C.M. Crawford, 1959; J.D. Ingle Jr., S.R. Crouch, 1972; J.D. Ingle Jr., 1973; L.D. Rothman, S.R. Crouch, J.D. Ingle Jr., 1975).

Twyman und Lothian fanden 1933 eine Fehlerfunktion, die bei einer Intensität von 0,434 ein Minimum durchläuft (Abb. 5).

Verschiedene Autoren (A. Ringbohm, 1939; T.R. Hogness, F.P. Zscheile, A.E. Sidwell Jr., 1939; R.H. Hamilton, 1944; G.H. Ayres, 1949; R. Cole, 1950; D. Robinson, 1951; N.T. Gridgeman, 1952); [E.J. Stearns, 1950] haben seitdem die Gültigkeit und praktische Anwendbarkeit dieser Funktion diskutiert. Einige wandelten diese Funktion ab, jedoch bleibt der prinzipielle Verlauf erhalten (Abb. 6).

*) Bei den hier durchgeführten Konzentrationsbestimmungen entfiel der Fehler in der Einwaage dadurch, daß Eich- und Analysenlösungen aus einer Stammlösung durch Verdünnen hergestellt wurden. Der Fehler in den abgemessenen Volumina wurde durch Verwendung von Dosimaten der Fa. Metrohm AG., Herisau/Schweiz (Dosimat E 514) auf Werte $< 0,1\%$ begrenzt. Der Fehler, der durch unterschiedliche Schichttiefe der Küvetten hervorgerufen wird, wurde dadurch eliminiert, daß vor jeder Analysenserie ein küvettenpezifisches Korrekturspektrum aufgenommen wurde, mit dem die Eich- und Analysenspektren korrigiert wurden. Da für die meisten Meßreihen ein vollautomatisches, rechnergesteuertes System mit Probenwechseleinheit (siehe 8.1.2) benutzt wurde, überflüßigten sich erneute Küvettenpositionierungen im Laufe der Messung. Dadurch entfiel auch der durch eventuelles Verkanten der Küvette bedingte Fehler in der Schichttiefe.

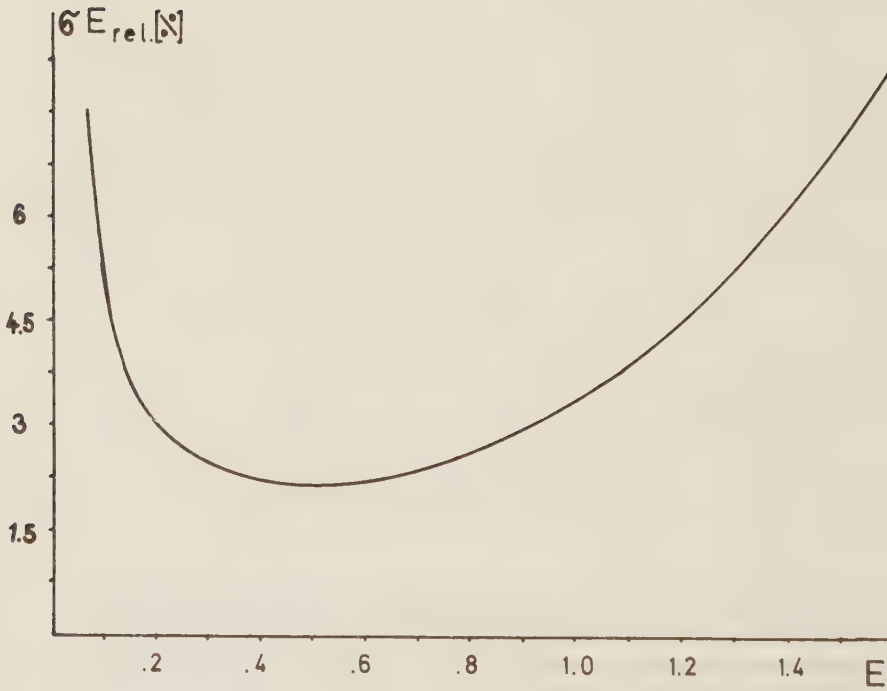


Abb. 5: Fehlerfunktion nach Twyman und Lothian.

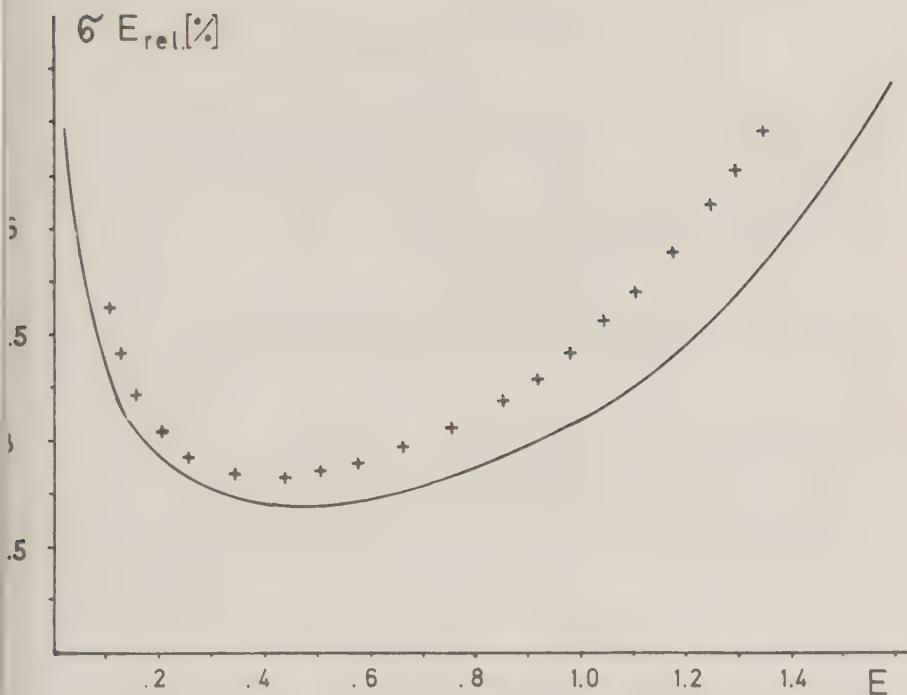


Abb. 6: Fehlerfunktion verschiedener Autoren.

3.1.1 Herleitung der Fehlerfunktion nach Weitkamp und Barth

Primäre Meßgröße in der UV-Spektroskopie ist grundsätzlich die Intensität des durch die Meßküvette und/oder Vergleichsküvette fallenden Lichtes I_0 bzw. I . Dieses Primärsignal muß dann in die analytisch relevante Größe Extinktion gewandelt werden. Hieraus folgt zwingend, daß jeder Fehler in I bzw. I_0 als Fehler in E weiter fortgepflanzt wird, wobei diese Fortpflanzung den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung gehorchen muß. [Einführende Literatur zur Fehlerfortpflanzung: A.A.Clifford, 1973; R.Ludwig, 1969; J.Topping, 1975.]

Die Extinktion ist definiert als

$$E = \log \frac{I_0}{I} = \log I_0 - \log I$$

Der Fehler in der Extinktion σE kann also zunächst durch die Fehler in I_0 und I erfaßt werden. Aus den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung gilt für die Gesamtstandardabweichung einer Funktion f in Abhängigkeit von den Standardabweichungen σp der einzelnen Parameter:

$$\sigma f = \left[\sum_{i=1}^{\text{Zahl der Parameter}} \left(\frac{\partial f}{\partial p_i} \right)^2 \cdot \sigma p_i^2 \right]^{1/2}$$

Durch Anwendung dieses Gesetzes ergibt sich

$$\begin{aligned} \sigma E^2 &= \left(\frac{\partial E}{\partial I_0} \right)^2 \cdot \sigma I_0^2 + \left(\frac{\partial E}{\partial I} \right)^2 \cdot \sigma I^2 \\ &= \log^2 e \cdot \left(\frac{1}{I_0^2} \cdot \sigma I_0^2 + \frac{1}{I^2} \cdot \sigma I^2 \right) \end{aligned}$$

Unter der Annahme

$$\sigma I_0 = \sigma I = 1$$

ergibt sich als Fehler in der Extinktion:

$$\sigma E = \log e \sqrt{\frac{1}{I_0^2} + \frac{1}{I^2}} \quad (11)$$

Aus

$$E = \log I_0 - \log I$$

folgt:

$$\log I = \log I_0 - E$$

$$I = 10^{\log I_0 - E}$$

$$I = \frac{I_0}{10^E} \quad (11a)$$

(11) in Gleichung (11a) eingesetzt ergibt:

$$\sigma E = \log e \sqrt{\frac{1}{I_0^2} + \frac{10^{2E}}{I_0^2}}$$

$$\sigma E = \frac{\log e}{I_0} \sqrt{1 + 10^{2E}} \quad (12)$$

$$\sigma E_{\text{rel}} = \frac{1}{E} \frac{\log e}{I_0} \sqrt{1 + 10^{2E}} \quad (13)$$

Der Fehler in E, der sich aus den Fehlern I_0 und I ergibt, ist also eine Funktion des Ausdrucks

$$\sqrt{1 + 10^{2E}} \quad *)$$

Wie aus der in Abbildung 6 gezeigten Funktion nach Weitkamp (Gl. 13) hervorgeht, liegt der ausnutzbare Meßbereich bei Extinktionen zwischen 0,3 und 0,8, während die relativen Extinktionsfehler für Extinktionen außerhalb dieses Bereiches sehr groß sind.

Experimentell wurde jedoch gefunden, daß auch Extinktionen $> 0,8$ bis weit über 1 eine ausgezeichnete Präzision zeigen und zu guten Ergebnissen bei Konzentrationsbestimmungen führen ^{**)} . Trägt man die relativen Standardabweichungen eines Meßwertes als Maß für seine Präzision gegen die Extinktion auf, so ergibt sich der in der Abbildung 7 gezeigte Verlauf.

*) Aus Gleichung (13) ist ersichtlich, daß der Fehler in der Extinktion zusätzlich von I_0 abhängt: mit Zunahme von I_0 , d.h. mit größerem Spalt, verkleinert sich der Fehler in der Extinktion. Andererseits ist zu berücksichtigen, daß mit größerem Spalt auch die Bandbreite des eingestrahnten Lichtes zunimmt und damit die Fehler in der Extinktion verursacht werden (siehe Gerätebeschreibung PMQ II, Zeiss).

**) Herschberg (1964) fand experimentell, daß die absolute Standardabweichung eines Extinktionswertes im Bereich von 0 bis 1,6 weitgehend unabhängig ist vom Extinktionswert selbst und von 0,001 nicht signifikant verschieden ist. Er begründet diese Beobachtung allerdings nicht und läßt die oben aufgeführten Fehlerfunktionen unberücksichtigt.

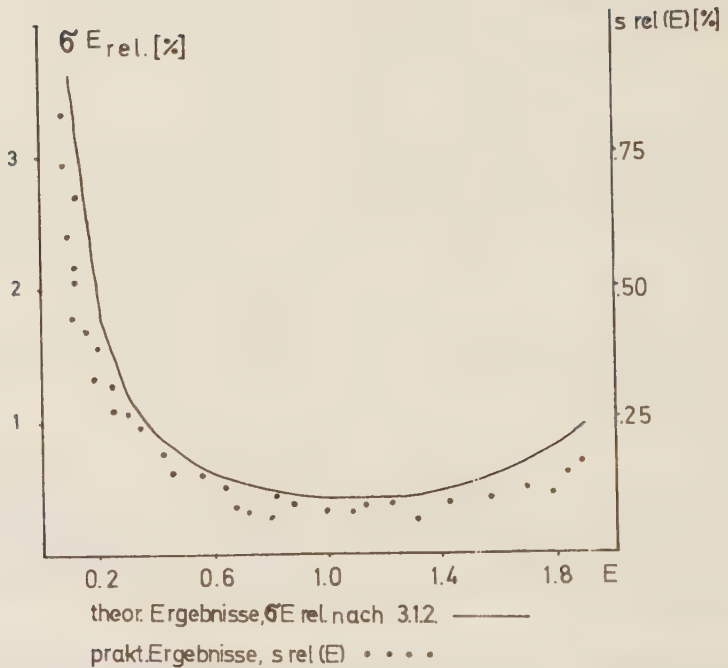


Abb. 7: Erläuterung siehe Text.

Der Versuch wurde an allen zur Verfügung stehenden Geräten für verschiedene Wellenlängenbereiche bei variierender Spaltbreite wiederholt. Es wurde dabei keine prinzipielle Änderung der Kurvenverläufe beobachtet.

Versuchsbeschreibung:

Das analoge Ausgangssignal des Photometers wurde über ein Digitalvoltmeter (Hewlett Packard 34740 A) einem Rechner (Hewlett Packard 9830 A) zugeführt. Bei konstanter Wellenlänge wurden Extinktionen zwischen 0 und 2 erzeugt. Für jeden Meßwert wurden 100 Daten übernommen, die relative Standardabweichung bestimmt und das durch Mittelwertbildung geglättete Signal gegen die relative Standardabweichung aufgetragen.

Diese experimentellen Ergebnisse geben Anlaß, die oben abgeleitete Funktion neu zu überdenken.

3.1.2 Änderung der Funktion - eigene Ansätze

Weitkamp geht von der Annahme aus :

$$\sigma I_0 = \sigma I = 1$$

Durch diese Annahme vereinfacht sich der Ausdruck für σE zu :

$$\sigma E = \frac{\log e}{I_0} \sqrt{1 + 10^{2E}}$$

Weist man den Größen σI und σI_0 zunächst keinen numerischen Wert zu, so erhält man für σE folgenden Ausdruck :

$$\sigma E = \frac{\log e}{I_0} \sqrt{\sigma I_0^2 + \sigma I^2 \cdot 10^{2E}} \quad (14)$$

Um den Fehler in der Extinktion numerisch berechnen zu können, gilt es, Näherungswerte für σI_0 und σI zu finden. Folgende Überlegungen wurden angestellt, um Werte für diese beiden Größen zu finden.

Bei jedem Chopper-Zyklus (z.B. 25 Hz $\hat{=}$ 40 ms) wird I_0 nachgeregelt und geht somit in den Meßwert primär ein. σI enthält außer dem Fehler in I_0 noch den Fehler in I , wird aber durch die Zeitkonstante des Verstärkers und durch den Integrationsvorgang bei der Analog-Digital-Wandlung (z.B. 125 ms) über eine endliche Zahl von Chopper-Zyklen gemittelt.

Aus diesen Gründen liegt den Fehlerbetrachtungen dieser Arbeit folgender Funktionsansatz zugrunde :

$$\sigma I_0 > \sigma I$$

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen σI_0 und σI kann nicht angegeben werden, doch kann man näherungsweise schreiben :

$$\sigma I = f \cdot \sigma I_0$$

Gleichung (14) geht somit über in :

$$\sigma E = \frac{\log e}{I_0} \cdot \sigma I_0 \cdot \sqrt{1 + f^2 10^{2E}} \quad (15)$$

bzw. bezogen auf die Extinktion

$$\sigma E_{\text{rel}} = \frac{1}{E} \cdot \frac{\log e}{I_0} \cdot \sigma I_0 \cdot \sqrt{1 + f^2 10^{2E}} \quad (15a)$$

Für den Faktor f muß gelten

$$f < 1$$

Reale Werte dürften $f = 0,1$ bis $f = 0,25$ darstellen. Es ist zu beachten, daß diese Größe f vom verwendeten Gerät (Zeitkonstante !) und A/D-Wandler (Integrationszeit !) abhängt. Abbildung 8 zeigt den Verlauf der Fehlerfunktion für Werte von $f = 1$ [identisch mit der von Weitkamp angegebenen Form, Gl.(13)], $f = 0,5$, $f = 0,25$ und $f = 0,1$.

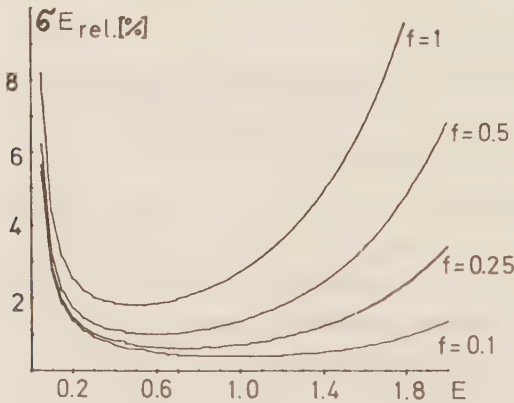


Abb.8: Fehlerfunktion der Extinktion, Erläuterungen siehe Text.

Für die für diese Arbeit zur Verfügung stehenden Geräte ergab sich aus den schon zuvor beschriebenen Versuchen ein Faktor von 0,1 . Als numerischer Wert für σI_0 wurden Werte zwischen 0,5 und 1 eingesetzt.

3.2 Erweiterte Fehlerfunktion

Es soll im folgenden versucht werden, unter Zuhilfenahme der oben hergeleiteten Fehlerfunktion eine erweiterte Fehlerfunktion zu beschreiben, die nicht nur die Fehler in I_0 und I , sondern darüberhinaus den Fehler in der Wellenlängeneinstellung berücksichtigt.

Jeder Fehler in der Ansteuerung der Wellenlänge macht sich unmittelbar in der Extinktion bemerkbar. Geht man davon aus, daß die Wellenlängenskala linear ist und somit die Einstellgenauigkeit im gesamten Spektralbereich gleich groß ist, und weiterhin, daß die Standardabweichung in der Wellenlängeneinstellung $\sigma \lambda$ unmittelbar ein Maß für die Genauigkeit der Ansteuerung ist, so gelten folgende Ableitungen: Der Fehler σE ist unmittelbar von der Steigung der Meßkurve abhängig, d.h. es gilt Gleichung (16):

$$\sigma E = \sqrt{\left(\frac{\partial E}{\partial \lambda}\right)^2 \cdot \sigma \lambda^2} \quad (16)$$

Um eine gültige Aussage über die Präzision eines Meßpunktes zu machen, muß daher die unmittelbare Umgebung des Meßpunktes betrachtet werden. Bei genügend dichter Meßpunktfolge ist es möglich, die Differenzierung des Spektrums - als Maß für die Fehleranfälligkeit bezüglich der Wellenlängensteuerung - numerisch vorzunehmen.

Unter Einbeziehung des Fehlers in der Wellenlängeneinstellung und der Fehler in I_0 und I wird nach den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung der Extinktionsfehler formuliert:

$$\begin{aligned} \sigma E &= \left[\left(\frac{\partial E}{\partial \lambda}\right)^2 \cdot \sigma \lambda^2 + \left(\frac{\partial E}{\partial I}\right)^2 \cdot \sigma I^2 + \left(\frac{\partial E}{\partial I_0}\right)^2 \cdot \sigma I_0^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\ &= \left[\left(\frac{\partial E}{\partial \lambda}\right)^2 \cdot \sigma \lambda^2 + \left(\frac{\log e}{I_0}\right)^2 \cdot \sigma I_0 \cdot (1 + f^2 \cdot 10^{2E}) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (17) \end{aligned}$$

Als relativer Fehler ergibt sich

$$\sigma E_{\text{rel}} = \frac{\sigma E}{E} = \frac{1}{E} \cdot \sqrt{\left(\frac{\partial E}{\partial \lambda}\right)^2 \cdot \sigma \lambda^2 + \left(\frac{\log e}{I_0}\right)^2 \cdot \sigma I_0^2 (1 + f^2 \cdot 10^{2E})} \quad (18)$$

Faßt man die konstanten Größen $\log e$, $I_0^{*)}$ und σI_0 zusammen zu einer neuen Größe σG , die als Gerätekonstante betrachtet werden kann, so ergibt sich

$$\sigma E_{\text{rel}} = \frac{1}{E} \sqrt{\left(\frac{\partial E}{\partial \lambda}\right)^2 \sigma \lambda^2 + \sigma G^2 (1 + f^2 10^{2E})} \quad (19)$$

Mit Hilfe einer solchen Fehlerfortpflanzungsrechnung kann man jedem Meßpunkt innerhalb eines Spektrums eine Güteziffer zuordnen.

Diese Güteziffer - der bei vorgegebenen Größen σG , f und $\sigma \lambda^{**})$ resultierende maximale Gesamtfehler in der Extinktion - soll verstanden werden als maximaler relativer Fehler der Extinktion.

Eine exakte Aussage über den realen Fehler ist aus den vorgetragenen Gründen nicht möglich und auch nicht notwendig, da ja lediglich eine Optimierung der Wahl der Meßwellenlängen betrachtet werden soll. Prinzipiell wäre schließlich auch eine Umrechnung in reale Fehler möglich, wenn mit einem experimentell zu bestimmenden Faktor multipliziert wird.

3.3 Experimentelle Belegung der Fehlerfunktion

An verschiedenen Beispielen wurde die Gültigkeit der oben formulierten Fehlerfunktion überprüft. Die Spektren wurden mehrere Male ($n = 35$) in einem geeigneten Wellenlängenbereich vermessen, die Standardabweichung jedes Meßpunktes einer Wellenlänge bestimmt und diese mit dem nach Funktion (19) vorausberechneten Fehler verglichen.

*) I_0 kann bei konstanter Spaltbreite als konstant angenommen werden !

**) $\sigma \lambda$ wurde in den in dieser Arbeit berechneten Fehlerfunktionen mit 0,1 nm angesetzt.

Die Abbildungen 9 und 9a*) zeigen, daß die theoretische Fehlerkurve praktisch bestätigt werden konnte.

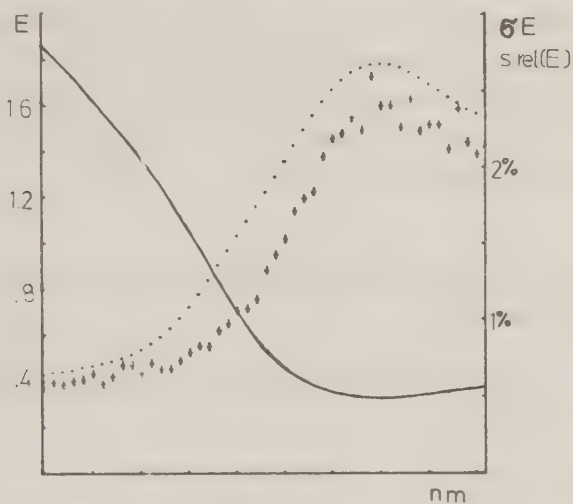


Abb. 9: Theoretische (berechnete) Fehlerkurve (....) und praktisch ermittelte Fehlerkurve (+ + + +) eines UV-Spektrums (—) ;
[Spektralphotometer PE 124] .

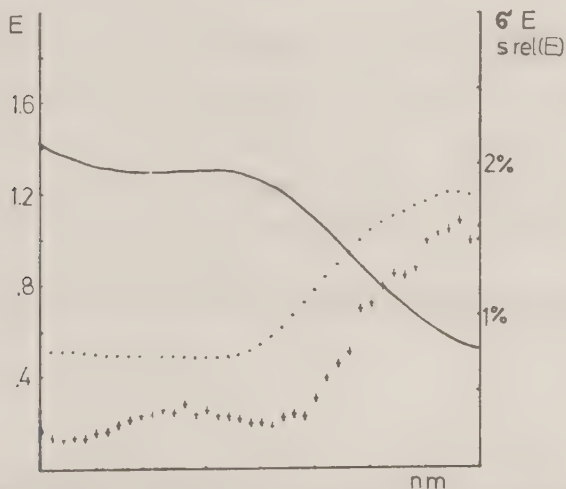


Abb. 9a: Theoretische (berechnete) Fehlerkurve (....) und praktisch ermittelte Fehlerkurve (+ + + +) eines UV-Spektrums (—) ;
[Spektralphotometer PE 575] .

*) In den Abbildungen sind die realen Fehlerkurven (+ + +) mit Faktor 3 (Spektralphotometer PE 124) bzw. Faktor 4 (Spektralphotometer PE 575) belegt.

Für Messungen, bei denen das Meßsignal nicht digital zur Verfügung steht, hat die gefundene Funktion nur dann Gültigkeit, wenn der Meßwert auf einer extinktions-linearen Skala angezeigt wird. Eine transmissions-lineare Skala erlaubt bei großen Extinktionswerten nur eine geringe Ablesegenauigkeit, so daß hier zwei Effekte entgegenlaufen. So wurde bei Versuchen am Spektralphotometer PMQ II mit transmissions-linearer Skala die in den Abbildungen 9 und 9a gezeigte Übereinstimmung zwischen Theorie und Praxis nicht so deutlich.

3.4 Fehlerfortpflanzung des Extinktionsfehlers in die Konzentration Einkomponentenanalyse

Betrachtet man die Fehlerfortpflanzung des Fehlers in der Extinktion auf die Konzentration, so ergibt sich mit

$$c_a = \frac{E_a}{\epsilon}$$

als Fehler in der Konzentration:

$$\sigma_{c_a} = \sqrt{\left(\frac{\partial c_a}{\partial E_a}\right)^2 \cdot \sigma_{E_a}^2 + \left(\frac{\partial c_a}{\partial \epsilon}\right)^2 \cdot \sigma_{\epsilon}^2}$$

Bei fehlerfreier Bestimmung von ϵ reduziert sich der Fehler in der Konzentration auf

$$\sigma_{c_a} = \sqrt{\left(\frac{\partial c_a}{\partial E_a}\right)^2 \cdot \sigma_{E_a}^2}$$

bzw. mit

$$\frac{\partial c_a}{\partial E_a} = \frac{1}{\epsilon} :$$

$$\sigma_{c_a} = \frac{1}{\epsilon} \cdot \sigma_G \cdot \sqrt{1 + f^2 10^{2E_a}} \quad \left[\sigma_G = \frac{\sigma_{I_0}}{I_0} \cdot \log e \right] *)$$

*) Der Fehleranteil in σ_{E_a} , der sich aus dem Fehler in der Wellenlängeneinstellung ergibt, kann hier unberücksichtigt bleiben.

Als relativer Fehler ergibt sich, bezogen auf die Normkonzentration c_n , die der Sollkonzentration der Analyse entspricht:

$$\begin{aligned}\sigma c_a \text{ rel} &= \frac{\sigma c_a}{c_n} = \frac{\sigma c_a}{E_n} \cdot \epsilon \quad \left[c_n = \frac{E_n}{\epsilon} \right] \\ &= \frac{1}{\epsilon} \cdot \sigma G \cdot \sqrt{1 + f^2 10^{2E}} \cdot \frac{\epsilon}{E_n} \\ \sigma c_a \text{ rel} &= \frac{1}{E_n} \cdot \sigma G \cdot \sqrt{1 + f^2 10^{2E}} \quad (20)\end{aligned}$$

Da Normextinktion und zu erwartende Analysenextinktion in etwa gleich groß sind, ergibt sich als relativer Fehler in der Konzentration - Gleichung (20) - ein mit dem relativen Fehler in der Extinktion praktisch identischer Wert (Gl. 15a).

Für den Fall: $E_n \neq E_a$ gilt aber wegen des Lambert-Beerschen Gesetzes

$$\sigma c_a^{\text{rel}} = \sigma c_a \text{ rel} \cdot f$$

d.h. es kommt lediglich ein multiplikativ eingehender Faktor hinzu, der für die betrachtete Analyse konstant ist.

Um den Fehler bei einer Konzentrationsbestimmung zu minimieren, genügt es also, die Extinktion zu suchen, die den minimalen Fehler aufweist (vergleiche hierzu 4.3.). Vorausgesetzt wurde hierbei eine fehlerfreie Bestimmung der Eichdaten.

Da die ϵ -Werte wiederum über eine Extinktionsmessung zugänglich sind, wird der Fehler in ϵ dann am kleinsten sein, wenn die Eichextinktion so gewählt wird, daß der Fehler dieser Extinktion minimal wird.

Zusätzlich können die Eichdaten durch Wiederholungsmessungen abgesichert werden.

4. Konsequenzen aus der Gesamtfehlerfunktion für eine Einkomponentenanalyse

Mit Funktion (19) ist ein Algorithmus gefunden, die Gütezahl jeden Meßpunktes innerhalb eines Spektrums zu bestimmen.

Abbildung 10 zeigt ein durch Gauß-Peak-Überlagerung erstelltes simuliertes Spektrum und seine Fehlerfunktionen.

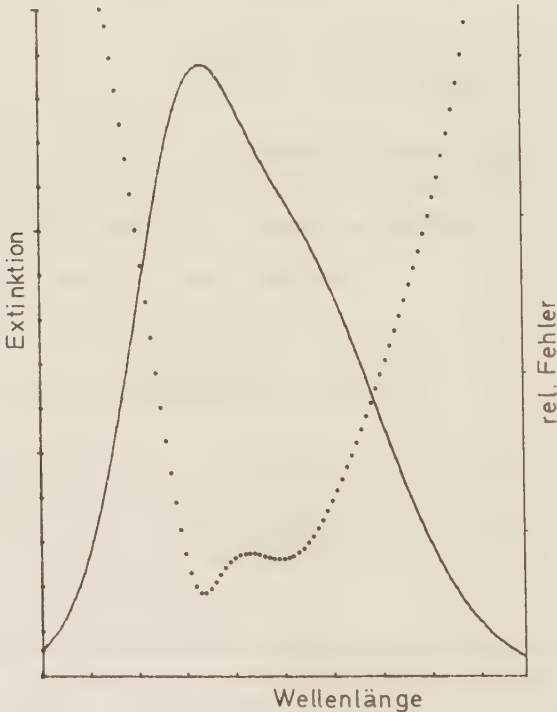


Abb.10: Durch Gauß-Peak-Überlagerung simuliertes Spektrum (—), Fehlerkurve (.....).

Die Gesamtfehlerfunktion zeigt dort ein Minimum, wo das Spektrum ein Maximum aufweist - dies ergibt sich zwingend aus den Überlegungen in 3.2 und 3.3 :

Im Maximum ist die Steigung des Spektrums $\frac{\sigma E}{\sigma \lambda}$ gleich Null, der Fehler nach Funktion (19) bei geeigneter Wahl der Extinktion ($0,3 < E < 1,6$) ist minimal. Für die Bestimmung einer Einkomponentenanalyse hat dieses Phänomen folgende Konsequenzen: Da für die Extinktion im Maximum die größte Präzision zu erwarten ist, ist hier - und nur hier - der geeignete Meßpunkt. Diese Erkenntnis ist keineswegs neu; es ist allgemein üblich, eine Komponente durch Messung im Maximum zu bestimmen. Es stellt sich jedoch die Frage, ob die bei Mehrkomponentenanalysen sehr häufig angewendete Methode der Überbestimmung auch bei Einkomponentenanalysen sinnvoll oder sogar notwendig ist.

An Hand der oben aufgeführten Fehlerfunktionen werden im folgenden Betrachtungen angestellt, ob eine Überbestimmung des Problems durch Hinzuziehen weiterer Meßpunkte eine Verbesserung des Ergebnisses überhaupt bringen kann.

4.1 Fehlerbetrachtungen für Konzentrationsbestimmungen an einer Wellenlänge

Im Hinblick auf die Fehlerbetrachtung lassen sich eine Reihe von Gleichungen sehr vereinfachen und übersichtlicher schreiben, wenn man - ebenso wie im vorangehenden Kapitel - von normierten Konzentrationen ausgeht.

In diesem Definitionssystem soll wieder gelten:

$$\begin{aligned} c_n &= \frac{E_n}{\epsilon} \\ c_a &= \frac{E_a}{\epsilon} \\ c_a \text{ rel} &= \frac{c_a}{c_n} = \frac{E_a}{\epsilon} \cdot \frac{\epsilon}{E_n} \end{aligned}$$

Aus der gemessenen Extinktion der Analyse ergibt sich die Konzentration zu

Gleichung (21)

$$c_a \text{ rel} = \frac{E_a}{E_n} \quad (21)$$

Die fehlerbehaftete Meßgröße E_a läßt sich für den Fall $c_a = c_n$ in Sollextinktion und Fehleranteil aufspalten:

$$E_a = E_n + \sigma E_a$$

Daraus ergibt sich:

$$c_a \text{ rel} = \frac{E_n + \sigma E_a}{E_n}$$

Gleichung (21) geht in die von Neuer (1970) angegebene Form über:

$$c_a \text{ rel} = 1 + \frac{\sigma E_a}{E_n}$$

Das Fehlerglied $\sigma c_a \text{ rel}$ nimmt die einfache Form (22) an:

$$\sigma c_a \text{ rel} = \frac{\sigma E_a}{E_n} \quad (22)$$

σE_a läßt sich nach Gleichung (17) berechnen.

Da das Glied $\frac{\partial E}{\partial \lambda}$ im Maximum des Spektrums Null wird, reduziert sich der Gesamtfehler in der Konzentration bei Messung im Maximum auf den Fehler in I und I_0 .

Das Ziel jeder Optimierung, nämlich den Fehlerterm im Ergebnis zu minimieren, ist damit bei Messung im Maximum und bei geeigneter Wahl der Extinktion ($0,3 < E < 1,6$) erreicht.

4.2 Fehlerbetrachtung für eine endliche Zahl von Meßpunkten

Überträgt man die oben aufgeführte Fehlerbetrachtung auf eine endliche Zahl von Meßpunkten, so ergeben sich folgende Gleichungen:

Die Ergebniskonzentration ergibt sich aus der linearen Regression - mit normierter Konzentration und normierten Eichdaten - zu:

$$c_a \text{ rel} = \frac{\sum E_{ni} E_{ai}}{\sum E_{ni}^2} = \frac{\sum E_{ni} \cdot (E_{ni} + \sigma E_{ai})}{\sum E_{ni}^2} = 1 + \frac{\sum E_{ni} \sigma E_{ai}}{\sum E_{ni}^2} \quad *)$$

Das Fehlerglied σc_a nimmt die Form (23) an:

$$\sigma c_a \text{ rel} = \frac{\sum E_{ni} \sigma E_{ai}}{\sum E_{ni}^2} \quad (23)$$

*) alle Summen laufen von $i = 1$ bis m

4.3 Vergleichende Fehlerbetrachtung

Das Ziel jeder Optimierung sollte sein, die Unschärfe im Ergebnis zu reduzieren, d.h. den Fehlerterm σc_a zu minimieren.

Um zu beurteilen, ob eine Überbestimmung mit m Meßpunkten zu besseren Ergebnissen führt als eine Einpunktauswertung mit Messung im Maximum, ist es also notwendig, die Residuen beider Lösungen zu vergleichen.

Im folgenden soll die Vermutung bestätigt werden, daß durch Überbestimmung einer Einkomponentenanalyse an m Meßpunkten gegenüber der Bestimmung an einer Wellenlänge im Maximum keine Steigerung der Präzision erreicht wird.

Behauptung :

$$\sigma c_{aj} \stackrel{!}{<} \sigma c_a(m)$$

$$\frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}} \stackrel{!}{<} \frac{\sum E_{ni} \sigma E_{ai}}{\sum E_{ni}^2}$$

Voraussetzungen :

- 1) $\sigma E_{ai} > 0$
- 2) $\sigma E_{aj} < \sigma E_{ai} \quad i \neq j$
- 3) $E_{nj} > E_{ni} \quad i \neq j$

Beweis :

$$\frac{\sum \sigma E_{ai} E_{ni}}{\sum E_{ni}^2} = \frac{\sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni} + \sigma E_{aj} E_{nj}}{\sum_{i \neq j} E_{ni}^2 + E_{nj}^2}$$

$$\frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}} \stackrel{!}{>} \frac{\sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni} + \sigma E_{aj} E_{nj}}{\sum_{i \neq j} E_{ni}^2 + E_{nj}^2}$$

$$\sigma E_{aj} \sum_{i \neq j} E_{ni}^2 + \sigma E_{aj} E_{nj}^2 \geq E_{nj} \sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni} + \sigma E_{aj} E_{nj}^2$$

$$\sigma E_{aj} \sum_{i \neq j} E_{ni}^2 = E_{nj} \sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni}$$

*) Index j

Der Beweis wird über die Widerspruchsmethode geführt:

Annahme:

$$\frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}} > \frac{\sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni}}{\sum_{i \neq j} E_{ni}^2}$$

Durch elementare Umformung folgt:

$$\frac{\sum_{i \neq j} E_{ni}^2}{E_{aj}} > \frac{\sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni}}{\sigma E_{aj}}$$

Mit den oben aufgeführten Voraussetzungen ergibt sich aus dem 1. Term:

$$\frac{\sum_{i \neq j} E_{ni}^2}{E_{aj}} = \sum_{i \neq j} \underbrace{\frac{E_{ni}}{E_{aj}}}_{< 1} \cdot E_{ni} < \sum_{i \neq j} E_{ni}$$

Aus dem 2. Term:

$$\frac{\sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni}}{\sigma E_{aj}} = \sum_{i \neq j} \underbrace{\frac{\sigma E_{ai}}{\sigma E_{aj}}}_{> 1} \cdot E_{ni} > \sum_{i \neq j} E_{ni}$$

Dies liefert die Lösung:

$$\frac{\sum_{i \neq j} E_{ni}^2}{E_{aj}} < \sum_{i \neq j} E_{ni} < \frac{\sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni}}{\sigma E_{aj}} \quad \text{bzw.}$$

$$\frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}} < \frac{\sum_{i \neq j} \sigma E_{ai} E_{ni}}{\sum_{i \neq j} E_{ni}^2}$$

Diese Ungleichung steht im Widerspruch zur Annahme, d.h. die Behauptung, daß der Fehlerterm σc_{aj} kleiner ist als der Fehlerterm, der sich bei Überbestimmung ergibt, ist damit bewiesen.

Selbstverständlich ergibt sich eine Steigerung der Genauigkeit, wenn an der als optimal erkannten Wellenlänge Wiederholungsmessungen durchgeführt werden. Liegen n Messungen mit der gleichen Präzision vor, ergibt sich folgende Fehlerbetrachtung:

Der Fehler im arithmetischen Mittel der n Messungen folgt aus der Fehlerfortpflanzungsrechnung:

$$\bar{c}_a = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n c_{ai}$$

$$\sigma \bar{c}_a = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial \bar{c}_a}{\partial c_{ai}} \right)^2 \cdot \sigma c_{ai}^2}$$

wegen:

$$\frac{\partial \bar{c}_a}{\partial c_{ai}} = \frac{1}{n}$$

ergibt sich

$$\sigma \bar{c}_a = \frac{1}{n} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n \sigma c_{ai}^2}$$

Da bei Messungen gleicher Präzision die σc_{ai} gleich groß sind, folgt:

$$\sigma \bar{c}_a = \frac{1}{n} \cdot \sqrt{n \cdot \sigma c_a^2}$$

$$\sigma \bar{c}_a = \frac{1}{\sqrt{n}} \cdot \sigma c_a$$

Mit $\sigma c_a = \frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}}$ ergibt sich

$$\sigma \bar{c}_a = \frac{1}{\sqrt{n}} \cdot \frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}}$$

Aus $\frac{1}{n} \cdot \frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}} < \frac{\sigma E_{aj}}{E_{nj}}$ folgt:

$$\sigma \bar{c}_a < \sigma c_{ai}$$

4.4 Beispiel einer Einkomponentenanalyse

Die im folgenden aufgeführten Ergebnisse von Einkomponentenanalysen bestätigen die in 4.3 bewiesene Behauptung. Alle Einpunktauswertungen zeigen relative Standardabweichungen, die von 0,3 (Tab.3, Coffein) bzw. 0,4 (Tab.4, Sulfadiazin) nicht signifikant verschieden sind. Nach den in 3.1.2 gemachten Voraussetzungen trifft das selbstverständlich nur auf solche Einpunktauswertungen zu, für die Extinktionen herangezogen werden, die eine nach Funktion (19) günstige Fehlerfortpflanzung zeigen; das sind in Tabelle 3 die Wellenlängen 262 bis 282 nm, in Tabelle 4 die Wellenlängen 224 bis 250 nm, also im Bereich des sehr breiten Maximums. Der Fehlerausgleich durch Minimierung der Fehlerquadratsumme (Tab. 3a/4a) ist unter diesen Voraussetzungen einer Messung im Maximum nicht überlegen, die meisten Wellenlängenkombinationen führen zu Ergebnissen, deren Standardabweichungen von 0,3 bzw. 0,4 nicht signifikant verschieden sind. Werden für die Auswertung allerdings ausschließlich Wellenlängen mit sehr ungünstigen Extinktionen herangezogen (z.B. die Flanken des Coffein-Spektrums), so vervielfacht sich die Standardabweichung gegenüber der Einpunktauswertung.

WL [nm]	Ext.	Fehler von E nach Gl. (19) [%]	$\bar{x}$ Coffein [%]	s rel [%]
244	0,331	1,35	100,23	1,21
246	0,343	1,34	100,18	1,13
248	0,381	1,33	100,20	0,93
250	0,440	1,27	100,15	0,86
252	0,514	1,18	100,14	0,67
254	0,600	1,09	100,10	0,59
256	0,698	1,01	100,09	0,62
258	0,805	0,92	100,09	0,42
260	0,915	0,87	100,08	0,40
262	1,032	0,82	100,10	0,33
264	1,138	0,78	100,09	0,30
266	1,233	0,78	100,11	0,33
268	1,317	0,76	100,08	0,32
270	1,380	0,73	100,08	0,31
272	1,415	0,68	100,08	0,27
274	1,415	0,68	100,05	0,28
276	1,380	0,80	100,09	0,29
278	1,312	0,81	100,12	0,34
280	1,215	0,82	100,13	0,38
282	1,091	0,89	100,09	0,36
284	0,936	1,07	100,12	0,56
286	0,761	1,33	100,08	0,52
288	0,583	1,69	100,11	0,64
290	0,412	2,22	100,14	0,85
292	0,267	2,92	100,20	1,27
294	0,155	4,1	100,21	2,14
296	0,081	6,02	100,29	3,22

Tabelle 3: Einkomponentenanalyse Coffein, Einpunktauswertung.
 Konzentration: 3 mg/100 ml
 Lösungsmittel: Chloroform / n-Propanol
 Spektralphotometer: PE 124
 Zahl der Analysen: 10

Zahl der Meßpunkte [Wellenlängen/nm]	$\bar{x}$ Coffein [%]	s rel [%]
27 (244 - 296) *)	100,14	0,38
14 (244 - 296)	100,12	0,39
13 (246 - 296)	100,08	0,36
9 (244 - 296)	100,09	0,37
7 (244 - 296)	100,20	0,42
5 (246 - 296)	100,15	0,36
16 (244 - 274)	100,19	0,37
12 (274 - 296)	100,24	0,36
10 (266 - 296)	100,30	0,32
4 (270, 272, 274, 276)	100,12	0,28
4 (272, 274, 276, 280)	100,09	0,29
2 (274, 276)	100,11	0,28
4 (290 - 296)	100,19	1,11
7 (244 - 256)	100,25	0,74

Tabelle 3a: Einkomponentenanalyse Coffein, überbestimmt.

*) in äquidistanten Abständen

WL [nm]	Ext.	Fehler von E nach Gl. (19) [%]	$\bar{x}$ Sulfadiazin [%]	s rel [%]
224	0,929	0,623	100,14	0,50
226	0,909	0,619	100,11	0,54
228	0,902	0,616	100,15	0,36
230	0,907	0,626	100,25	0,53
235	0,975	0,633	100,26	0,48
240	1,066	0,641	100,18	0,44
242	1,085	0,630	100,22	0,35
245	1,068	0,660	100,14	0,35
250	0,903	0,763	100,11	0,24
255	0,659	0,985	99,98	0,67
260	0,461	1,176	99,82	0,72
265	0,359	1,337	99,19	1,16
270	0,285	1,610	98,88	1,70
275	0,238	1,886	99,10	1,55
280	0,203	2,177	99,17	1,43
285	0,198	2,222	99,39	1,32
288	0,200	2,202	99,86	1,40

Tabelle 4: Einkomponentenanalyse Sulfadiazin, Einpunktauswertung.

Konzentration: 1 mg/100 ml
Lösungsmittel: 0,1 n HCl
Spektralphotometer: PE 575
Zahl der Analysen: 12

Zahl der Meßpunkte [Wellenlängen/nm]	$\bar{x}$ Sulfadiazin [%]	s rel [%]
17 (224 - 288) *)	100,12	0,36
9 (224 - 288)	100,14	0,35
8 (224 - 285)	100,10	0,38
6 (224 - 285)	100,13	0,41
6 (226 - 288)	100,12	0,39
5 (224 - 288)	100,13	0,37
4 (226 - 275)	100,09	0,41
9 (226 - 255)	100,17	0,39
5 (235 - 250)	100,18	0,38
3 (240, 242, 245)	100,18	0,39
2 (242, 245)	100,18	0,39

Tabelle 4a: Einkomponentenanalyse Sulfadiazin, überbestimmt.

*) in äquidistanten Abständen

5. Problematik der Zweikomponentenanalyse

5.1 Bestimmte Gleichungssysteme

Die Gedanken des vorstehenden Kapitels zur Einkomponentenanalyse scheinen zunächst auf Zweikomponentensysteme unmittelbar übertragbar zu sein. Auch hier bieten sich die Maxima der einzelnen Substanzen als präziseste Eichdaten zur Auswertung an. Allerdings liegen die beiden anderen notwendigen Eichdaten - gegeben durch den Verlauf der Spektren - häufig in Bereichen, die nach Funktion (19) sehr ungünstig sind. Außerdem lassen sich beim Analysenspektrum - bedingt durch die Bandenüberlappung der Einzelspektren - Meßpunkte in ungünstigen Bereichen grundsätzlich nicht vermeiden.

Es stehen daher folgende Fragen zur Diskussion:

- 1) Wann sind bei Zweikomponentenanalysen die Maxima der Eichspektren die optimalen Meßpunkte ?
- 2) Welche Meßpunkte sind zur Auswertung geeignet, wenn die Maxima keine optimalen Ergebnisse versprechen ?

5.1.1 Maxima als Meßpunkte eines bestimmten Gleichungssystems

Obwohl bei Messung in den Maxima der Eichspektren überwiegend weniger präzise Daten in Kauf genommen werden müssen, bietet diese Methode dennoch einen entscheidenden Vorteil. Es hat sich als günstig für die numerische Stabilität eines Gleichungssystems herausgestellt, die Hauptdiagonalelemente der erhaltenen Matrix möglichst groß zu wählen (B.Klabuhn, M.Kuck und H.Goetz, 1973). Die Meßpunkte in den Maxima führen zu einer Matrix, die dieser Forderung genügt und daher große numerische Stabilität zeigt. Dies ist jedoch nur dann uneingeschränkt richtig, wenn gleichzeitig neben großen Hauptdiagonalelementen kleine Nebendiagonalelemente auftreten. Liegen die Maxima der Eichspektren sehr weit auseinander, jedes in einem Wellenlängenbereich, wo keine andere Substanz absorbiert, so ist die Konstellation: größte Hauptdiagonalelemente neben kleinsten Nebendiagonalelementen genau in den Maxima gegeben. Die Nebendiagonalelemente sind Null, damit sind nur die Hauptdiagonalelemente von Null verschieden und das Verfahren zerfällt im Hinblick auf die Eichung und Auswertung in zwei voneinander unabhängige

Einzelverfahren, d.h. es gelten hier die Arbeitsbedingungen für Einkomponentenanalysen.

Dies soll das folgende Gleichungssystem veranschaulichen.

$$\alpha_1 \cdot c_{a,A} + 0 \cdot c_{a,B} = E_{a1}$$

$$0 \cdot c_{a,A} + \beta_2 \cdot c_{a,B} = E_{a2}$$

Liegen die Maxima jedoch dichter beieinander in Bereichen, wo die andere Komponente noch eine endliche Absorption zeigt, ist die Konstellation "größte Hauptdiagonalelemente und gleichzeitig kleinste Nebendiagonalelemente" an Stellen im Spektrum zu finden, die nicht unbedingt die Maxima sind; bei zunehmender Bandenüberlappung werden die Nebendiagonalelemente immer größer.

5.1.2 Selektivität

Kaiser (1973) definiert über den Zusammenhang Diagonal- und Nebendiagonalelemente den Begriff Selektivität: In jeder Zeile soll das Element der Hauptdiagonalen die Summe der Absolutbeträge der anderen Elemente in derselben Zeile überwiegen. Es soll gelten:

$$\frac{|\epsilon_{ii}|}{\sum_{\substack{K=1 \\ i \neq K}}^N |\epsilon_{iK}|} > 1$$

Da bei Zweikomponentensystemen pro Matrixzeile nur ein Nebendiagonalelement vorhanden ist, kann die Selektivität in diesem Fall vereinfacht formuliert werden:

$$\frac{\epsilon_{ii}}{\epsilon_{iK}} > 1$$

Der Quotient aus Haupt- und Nebendiagonalelement ist also ein Maß für die Selektivität. Je größer dieser Quotient desto selektiver ist die Meßstelle für eine Substanz. Wird das Nebendiagonalelement $\epsilon_{iK} = 0$, ist der Quotient formal unendlich, das Verfahren an dieser Stelle vollselektiv. Meßstellen, die zu Quotienten nur etwas über 1 führen, zeigen für die Substanz praktisch keine Selektivität mehr.

Verschiedene Autoren (H.Kaiser, 1973; A.Junker, G.Bergmann, 1976) ziehen die Selektivität als Kriterium für die Meßstellenauswahl heran und suchen aus der Fülle der gegebenen Matrixzeilen

$$c_{a,A} \cdot \alpha_1 + c_{a,B} \cdot \beta_1 = E_{a1}$$

$$c_{a,A} \cdot \alpha_2 + c_{a,B} \cdot \beta_2 = E_{a2}$$

$$\vdots$$

$$c_{a,A} \cdot \alpha_m + c_{a,B} \cdot \beta_m = E_{am}$$

die Stellen auf, für die gilt :

$$\frac{\alpha_i}{\beta_i} \stackrel{!}{=} \max$$

$$\frac{\beta_j}{\alpha_j} \stackrel{!}{=} \max$$

Durch Kombination der jeweils selektivsten Stellen im Spektrum wird große numerische Stabilität der erhaltenen Matrix erreicht.

5.1.3 Selektivitätsprodukt

Bei der vorgenannten Auswahlmethode wird zunächst jede Meßstelle isoliert, also herausgelöst aus dem Gesamtsystem betrachtet. Eine Untersuchung der Beziehung zwischen den Matrixelementen in ihrer gegenseitigen Wechselwirkung sollte jedoch zur Beurteilung des Gesamtsystems noch aussagekräftiger sein.

Die Beziehung aller Matrixelemente kann jedoch schon aus der Selektivitätsforderung hergestellt werden.

Wenn gilt :

$$\frac{\alpha_i}{\beta_i} \stackrel{!}{=} \max \quad \text{und} \quad \frac{\beta_j}{\alpha_j} \stackrel{!}{=} \max$$

dann gilt weiterhin :

$$\frac{\alpha_i \beta_j}{\beta_i \alpha_j} \stackrel{!}{=} \max \quad (24)$$

Dieser Ausdruck (24) enthält alle Haupt- und Nebendiagonalelemente.

Die Verknüpfung aller Elemente gelingt auch auf andere Weise, und zwar über

- 1) die Determinantenbildung
- 2) die Kondition der Matrix

5.1.4 Determinante

Die Determinante eines Gleichungssystems z.B. 2.Ordnung

$$\text{Det} \begin{pmatrix} \alpha_i & \beta_i \\ \alpha_j & \beta_j \end{pmatrix} = \alpha_i \beta_j - \alpha_j \beta_i$$

ist ein Kriterium für die Lösbarkeit des Gleichungssystems. Nur wenn die Determinante von Null verschieden ist, existiert eine eindeutige Lösung [Kleine Enzyklopädie Mathematik, 1972]. Hat eine Matrix eine zwar von Null verschiedene, aber betragsmäßig sehr kleine Determinante, so ergeben sich bei der numerischen Behandlung des Gleichungssystems oft erhebliche Ungenauigkeiten in der Lösung. Diese Ungenauigkeit im Lösungsvektor ist durch zwei Faktoren bedingt :

- 1) Die Elemente der Matrix sind nur näherungsweise bekannt, also fehlerbehaftet.
- 2) Es treten Rundungsfehler im Verlauf der Rechnung auf.

Die Richtigkeit der Determinante hat entscheidenden Einfluß auf den Lösungsvektor. Je größer nun die Determinante ist ^{*)}, desto weniger fallen die oben genannten Faktoren ins Gewicht, d.h. desto weniger treten Ungenauigkeiten im Lösungsvektor zu Tage.

Dies soll durch den Vergleich von zwei Matrizen mit konstanten Hauptdiagonalelementen und variierenden Nebendiagonalelementen veranschaulicht werden.

Folgende zwei Matrizen werden verglichen :

$$1) \begin{vmatrix} \alpha_1 & \beta_1 \\ \alpha_2 & \beta_2 \end{vmatrix} \quad \text{und} \quad 2) \begin{vmatrix} \alpha_1 & 2 \beta_1 \\ 2 \alpha_2 & \beta_2 \end{vmatrix}$$

*) Die Größe einer Determinanten wächst mit steigendem Wert ihrer Hauptdiagonalelemente und fallendem Wert ihrer Nebendiagonalelemente.

Die Determinanten ergeben sich zu

$$\text{Det} (1) = \alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1$$

$$\text{Det} (2) = \alpha_1 \beta_2 - 4 \alpha_2 \beta_1$$

woraus deutlich folgt :

$$\text{Det} (1) > \text{Det} (2)$$

Ist nun das Glied α_1 mit einem Fehler $\Delta \alpha_1$ behaftet, so lauten die beiden Matrizen

$$1a) \begin{vmatrix} \alpha_1 + \Delta \alpha_1 & \beta_1 \\ \alpha_2 & \beta_2 \end{vmatrix}$$

$$2a) \begin{vmatrix} \alpha_1 + \Delta \alpha_1 & 2 \beta_1 \\ 2 \alpha_2 & \beta_2 \end{vmatrix}$$

Die Determinanten

$$\text{Det} (1a) = (\alpha_1 + \Delta \alpha_1) \beta_2 - \alpha_2 \beta_1 = \alpha_1 \beta_2 + \Delta \alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1$$

$$\text{Det} (2a) = (\alpha_1 + \Delta \alpha_1) \beta_2 - 4 \alpha_2 \beta_1 = \alpha_1 \beta_2 + \Delta \alpha_1 \beta_2 - 4 \alpha_2 \beta_1$$

sind - durch das Fehlerglied $\Delta \alpha_1$ im Element α_1 - mit einem für beide Matrizen gleichen Fehler $\Delta \alpha_1 \beta_2$ behaftet. Die Auswirkung dieses konstanten Fehlers auf die beiden Systeme ist jedoch unterschiedlich.

Als relativer Fehler ergibt sich :

$$\sigma \text{ Det} (1a), \text{ rel} = \frac{\Delta \alpha_1 \beta_2}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1}$$

$$\sigma \text{ Det} (2a), \text{ rel} = \frac{\Delta \alpha_1 \beta_2}{\alpha_1 \beta_2 - 4 \alpha_2 \beta_1}$$

Daraus folgt :

$$\sigma \text{ Det} (1a), \text{ rel} > \sigma \text{ Det} (2a), \text{ rel}$$

Die größere Determinante weist also den kleineren prozentualen Fehler auf, so daß sich auch bei der Lösung des Gleichungssystems ein kleinerer Fehler in den Unbekannten ergibt.

Enthalten alle Elemente der Koeffizientenmatrix Fehler, so läßt sich die Auswirkung dieser Fehler auf die Determinante mit Hilfe der Fehlerfortpflanzungsrechnung formulieren.

Für den Fehler in den Determinanten gilt :

$$\sigma \text{ Det} = \sqrt{\left(\frac{\partial f}{\partial \alpha_1}\right)^2 \cdot \sigma \alpha_1^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial \alpha_2}\right)^2 \cdot \sigma \alpha_2^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial \beta_1}\right)^2 \cdot \sigma \beta_1^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial \beta_2}\right)^2 \cdot \sigma \beta_2^2}$$

$$f(\text{Matrix 1}) = f_1 = \text{Det}(1) = \alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1$$

$$f(\text{Matrix 2}) = f_2 = \text{Det}(2) = \alpha_1 \beta_2 - 4 \alpha_2 \beta_1$$

$$\frac{\partial f_1}{\partial \alpha_1} = \beta_2; \quad \frac{\partial f_1}{\partial \alpha_2} = -\beta_1; \quad \frac{\partial f_1}{\partial \beta_1} = -\alpha_2; \quad \frac{\partial f_1}{\partial \beta_2} = \alpha_1$$

$$\frac{\partial f_2}{\partial \alpha_1} = \beta_2; \quad \frac{\partial f_2}{\partial \alpha_2} = -4 \beta_1; \quad \frac{\partial f_2}{\partial \beta_1} = -4 \alpha_2; \quad \frac{\partial f_2}{\partial \beta_2} = \alpha_1$$

$$\sigma \text{ Det}(1) = \sqrt{\beta_2^2 \sigma \alpha_1^2 + \beta_1^2 \sigma \alpha_2^2 + \alpha_2^2 \sigma \beta_1^2 + \alpha_1^2 \sigma \beta_2^2}$$

$$\sigma \text{ Det}(2) = \sqrt{\beta_2^2 \sigma \alpha_1^2 + 16 \beta_1^2 \sigma \alpha_2^2 + 16 \alpha_2^2 \sigma \beta_1^2 + \alpha_1^2 \sigma \beta_2^2}$$

Nimmt man nun - zur Vereinfachung der Fehlerabschätzung - an, daß alle absoluten Standardabweichungen in den Koeffizienten gleich groß sind, und zwar so groß wie die größte Standardabweichung

$$\sigma \alpha_1 = \sigma \alpha_2 = \sigma \beta_1 = \sigma \beta_2 = \sigma \max$$

so ergibt sich

$$\sigma \text{ Det}(1) = \sigma \max \sqrt{\beta_2^2 + \beta_1^2 + \alpha_2^2 + \alpha_1^2} \quad (25)$$

$$\sigma \text{ Det}(2) = \sigma \max \sqrt{\beta_2^2 + 16 \beta_1^2 + 16 \alpha_2^2 + \alpha_1^2} \quad (25a)$$

Beim Vergleich dieser beiden Fehler kann $\sigma \max$ als konstante, multiplikativ eingehende Größe unberücksichtigt bleiben. Der Fehler in der Determinanten (2)

(Gl. 25a) läßt sich nun folgendermaßen aufspalten :

$$\sigma \text{ Det}(2) = \sqrt{\beta_2^2 + \beta_1^2 + \alpha_2^2 + \alpha_1^2 + 15 \beta_1^2 + 15 \alpha_2^2}$$

$$\sigma \text{ Det}(2) = \sqrt{(\sigma \text{ Det}(1))^2 + 15 \beta_1^2 + 15 \alpha_2^2}$$

Somit muß gelten:

$$\sigma \text{Det} (1) > \sigma \text{Det} (2)$$

und es folgt weiter:

$$\sigma \text{Det} (1) \text{ rel} = \frac{\sigma \text{Det}(1)}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} < \frac{\sigma \text{Det} (2)}{\alpha_1 \beta_2 - 4 \alpha_2 \beta_1} = \sigma \text{Det} (2) \text{ rel}$$

da gleichzeitig auch $\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1 > \alpha_1 \beta_2 - 4 \alpha_2 \beta_1$.

Real liegen die Verhältnisse jedoch komplizierter, da

$$\sigma \alpha_1 \neq \sigma \beta_1 \neq \sigma \alpha_2 \neq \sigma \beta_2 \neq \sigma \max$$

jedoch sind diese Größen nach den in Abschnitt 3 ff gemachten Herleitungen exakt zu formulieren, so daß eine Optimierungsrechnung möglich ist (vgl. 5.3.2).

Damit wird die Forderung

$$\text{Det} (\mathbf{S}) \stackrel{!}{=} \max$$

zu einem geeigneten Kriterium für die Meßstellenauswahl.

5.1.5 Vergleich Determinante - Selektivitätsprodukt

Dieses Kriterium soll im folgenden verglichen werden mit der Forderung nach größerer Selektivität.

Oben wurde bereits erwähnt, daß für ein bestimmtes Gleichungssystem nur dann eine eindeutige Lösung existiert, wenn die Determinante von Null verschieden ist, und daß Systeme mit größerer Determinante größere numerische Stabilität zeigen. Bei den hier betrachteten Zweikomponenten-Systemen gilt

$$0 < \epsilon_{ij} < 2$$

$$\text{und damit} \quad 0 < \text{Det} (\mathbf{S}) < 4$$

Die Meßstellen mit größerer Selektivität führen zwar auch zu den Systemen mit großer Determinante, jedoch nicht zwangsläufig zur größtmöglichen. Die Analogie und gleichzeitig der Unterschied beider Verfahren soll in folgender Betrachtung deutlich gemacht werden.

Voraussetzung für die Lösbarkeit eines Gleichungssystems ist :

$$\text{Det}(\mathbf{S}) \neq 0 \quad \alpha_i \beta_j - \alpha_j \beta_i \neq 0$$

Daraus folgt für den hier betrachteten Fall der UV-Spektroskopie, da alle Elemente positiv sein müssen :

$$\alpha_i \beta_j > \alpha_j \beta_i$$

Die Forderung für die Lösbarkeit eines Gleichungssystems kann daher auch formuliert werden als

$$\frac{\alpha_i}{\beta_i} > \frac{\alpha_j}{\beta_j}$$

Für die Meßstellen mit größerer Selektivität soll gelten :

$$\frac{\alpha_i}{\beta_i} \stackrel{!}{=} \max$$

$$\frac{\beta_j}{\alpha_j} \stackrel{!}{=} \max \quad \text{bzw.} \quad \frac{\alpha_j}{\beta_j} \stackrel{!}{=} \min$$

Damit ist zwangsläufig die Bedingung für die Lösbarkeit des Gleichungssystems erfüllt. Die Forderung nach größter Determinante ist jedoch erfüllt, wenn gilt :

$$\alpha_i \beta_j - \alpha_j \beta_i \stackrel{!}{=} \max$$

Bezeichnet man das Produkt aus den Hauptdiagonalelementen mit a und das Produkt aus den Nebendiagonalelementen mit b , so wird der Unterschied beider Verfahren anschaulich.

Sowohl die Determinante jeder möglichen 2×2 -Matrix als auch deren Selektivitätsprodukt sind Funktionen von a und b :

$$\text{Det} = f(a, b) = a - b$$

$$\text{Selekt.prod.} = f(a, b) = \frac{a}{b} \quad \left[\begin{array}{l} \text{mit } a = \alpha_i \beta_j \text{ und} \\ b = \alpha_j \beta_i \end{array} \right]$$

Beide Gleichungen zeigen unterschiedliche Verknüpfungen für a und b , folglich muß eine Auswahl der optimalen Wellenlängen λ_i und λ_j aus der Vielzahl von Meßpunkten über die maximale Determinante und die größtmögliche Selektivität nicht zu gleichen Ergebnissen führen.

5.1.6 Kondition der Matrix

5.1.6.1 Inverse Matrix

Die Berechnung des Lösungsvektors erfolgt sehr häufig - vor allem dann, wenn Rechner zur Auswertung herangezogen werden - über die inverse Eichmatrix. Das Gleichungssystem

$$\mathbf{S} \cdot \mathbf{c} = \mathbf{a}$$

hat die Lösung

$$\mathbf{c} = \mathbf{S}^{-1} \cdot \mathbf{a}$$

$\mathbf{S}$ = Stammdaten- (Eich-) matrix

$\mathbf{c}$ = Lösungs- (Konzentrations-) vektor

$\mathbf{a}$ = Analysenvektor (rechte Seite des Gleichungssystems)

$\mathbf{S}^{-1}$ = inverse Stammdatenmatrix

Die Invertierbarkeit der Koeffizientenmatrix hat daher auf die Lösung direkten Einfluß.

Im folgenden sollen Fehleranfälligkeit der inversen Matrix und Konditionierungsmethoden zur Beurteilung des Gleichungssystems diskutiert werden.

Die inverse Matrix $\mathbf{S}^{-1}$ folgt aus der Beziehung

$$\mathbf{S}^{-1} \cdot \mathbf{S} = \mathbf{S} \cdot \mathbf{S}^{-1} = \mathbf{E}$$

[$\mathbf{E}$ = Einheitsmatrix]

Für die Matrix

$$\mathbf{S} = \begin{vmatrix} \alpha_{ii} & \alpha_{ij} \\ \alpha_{ji} & \alpha_{jj} \end{vmatrix}$$

lautet die Inverse

$$\mathbf{S}^{-1} = \begin{vmatrix} \frac{\alpha_{jj}}{D} & \frac{-\alpha_{ij}}{D} \\ \frac{-\alpha_{ji}}{D} & \frac{\alpha_{ii}}{D} \end{vmatrix} = \frac{1}{D} \cdot \begin{vmatrix} \alpha_{jj} & -\alpha_{ij} \\ -\alpha_{ji} & \alpha_{ii} \end{vmatrix}$$

[$D = \text{Det}(\mathbf{S})$]

Allgemein gilt: Eine quadratische Matrix hat genau dann eine Inverse, wenn ihre Determinante ungleich Null ist [J.Stoer, 1972].

Es soll nun für die Beurteilung eines Gleichungssystems die Beziehung zwischen

Ausgangsmatrix mit deren Determinanten und der inversen Matrix untersucht werden.

5.1.6.2 Einflüsse von Fehlern in der Eichmatrix auf deren Inverse

Die Einflüsse von Fehlern in der Eichmatrix auf deren Inverse sollen in der folgenden theoretischen Betrachtung an einer Matrix **A** dargelegt werden.

Die inverse Matrix **A**⁻¹ folgt aus der Beziehung

$$\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{A} = \mathbf{E}$$

$$\mathbf{A} = (\alpha_{ij})$$

$$\mathbf{A}^{-1} = (\alpha_{ij}^*)$$

Durch Differenzieren nach den Gliedern α_{ij} ergibt sich:

$$\frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}} \cdot \mathbf{A} + \mathbf{A}^{-1} \cdot \frac{\partial \mathbf{A}}{\partial \alpha_{ij}} = \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial \alpha_{ij}}$$

Da die Elemente der Einheitsmatrix **E** von den α_{ij} unabhängig sind, gilt

$$\frac{\partial \mathbf{E}}{\partial \alpha_{ij}} = 0$$

Daraus folgt weiter

$$\frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}} \cdot \mathbf{A} + \mathbf{A}^{-1} \cdot \frac{\partial \mathbf{A}}{\partial \alpha_{ij}} = 0$$

oder

$$\frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}} = - \mathbf{A}^{-1} \cdot \frac{\partial \mathbf{A}}{\partial \alpha_{ij}} \cdot \mathbf{A}^{-1}$$

Wie man leicht sieht, gilt:

$$\frac{\partial \mathbf{A}}{\partial \alpha_{ij}} = \mathbf{E}_{ij}$$

Dabei bedeutet $\mathbf{E}_{ij}$ diejenige Matrix, deren Element $e_{ij} = 1$ ist, während alle anderen Elemente verschwinden.

Für den weiteren Rechengang ist es von Vorteil, die Matrix $\mathbf{E}_{ij}$ folgendermaßen aufzuspalten:

$$\mathbf{E}_{ij} = \mathbf{E}_{i1} \cdot \mathbf{E}_{1j}$$

z.B. für $i = j = 2$:

$$\mathbf{E}_{21} \begin{vmatrix} 0 & 1 \\ 1 & 0 \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 1 \end{vmatrix} \mathbf{E}_{22}$$

Und man erhält

$$\frac{\partial \mathbf{A}}{\partial \alpha_{ij}} = \mathbf{E}_{ij} = \mathbf{E}_{i1} \cdot \mathbf{E}_{1j}$$

Für $\frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}}$ ergibt sich damit

$$\frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}} = - (\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{E}_{i1}) \cdot (\mathbf{E}_{1j} \cdot \mathbf{A}^{-1})$$

$\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{E}_{i1}$ ist die Matrix, in deren erster Spalte die Elemente der i-ten Spalte von $\mathbf{A}^{-1}$ auftreten; alle anderen Elemente verschwinden. Analog ist $\mathbf{E}_{1j} \cdot \mathbf{A}^{-1}$ die Matrix, in deren erster Zeile die Elemente der j-ten Zeile von $\mathbf{A}^{-1}$ erscheinen und ansonsten verschwinden.

Die durch die Multiplikation von $\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{E}_{i1}$ und $\mathbf{E}_{1j} \cdot \mathbf{A}^{-1}$ erhaltene Matrix setzt sich also zusammen aus Elementen der i-ten Spalte und der j-ten Zeile von $\mathbf{A}^{-1}$. Für $i = j = 2$ erhält man z.B. folgende Matrizen

$$\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{E}_{i1} :$$

$$\begin{vmatrix} 0 & 0 \\ 1 & 0 \end{vmatrix} \quad \begin{vmatrix} \alpha_{11}^* & \alpha_{12}^* \\ \alpha_{21}^* & \alpha_{22}^* \end{vmatrix} \quad \begin{vmatrix} \alpha_{12}^* & 0 \\ \alpha_{22}^* & 0 \end{vmatrix}$$

$$\mathbf{E}_{1j} \cdot \mathbf{A}^{-1} :$$

$$\begin{vmatrix} \alpha_{11}^* & \alpha_{12}^* \\ \alpha_{21} & \alpha_{22} \end{vmatrix} \quad \begin{vmatrix} \alpha_{12}^* & \alpha_{22}^* \\ 0 & 0 \end{vmatrix}$$

Schließlich lautet das kl -te Element der Matrix $\frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}}$

$$- \alpha_{ki}^* \cdot \alpha_{jl}^*$$

Durch Differenzieren nach allen α_{ij} folgt für die Änderung im Element α_{kl}^* der inversen Matrix - hervorgerufen durch die Fehler in allen α_{ij} - :

$$d \alpha_{kl}^* = - \sum_{i=1}^N \alpha_{ki}^* \cdot \alpha_{jl}^* \cdot d \alpha_{ij}$$

$$[N = \text{Rang der Matrix } \mathbf{A}^{-1}]$$

5.1.6.3 Auswirkung von Fehlern in der Koeffizientenmatrix auf den Lösungsvektor

Analog zur vorangehenden Betrachtung soll der Einfluß der Koeffizientenfehler auf den Lösungsvektor dargelegt werden. Folgendes Gleichungssystem soll betrachtet werden :

$$\mathbf{A} \cdot \mathbf{x} = \mathbf{b}$$

Durch Differenzierung von

$$\mathbf{x} = \mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{b} \quad \text{nach den } \alpha_{ij}$$

ergibt sich

$$\frac{\partial \mathbf{x}}{\partial \alpha_{ij}} = \frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}} \cdot \mathbf{b} + \mathbf{A}^{-1} \frac{\partial \mathbf{b}}{\partial \alpha_{ij}}$$

Da die Elemente des Vektors $\mathbf{b}$ von den α_{ij} unabhängig sind, also $\frac{\partial \mathbf{b}}{\partial \alpha_{ij}} = 0$, reduziert sich das partielle Differential auf den Ausdruck

$$\begin{aligned}\frac{\partial \mathbf{x}}{\partial \alpha_{ij}} &= \frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \alpha_{ij}} \cdot \mathbf{b} \\ &= (-\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{E}_{ij} \cdot \mathbf{A}^{-1}) \cdot \mathbf{b}\end{aligned}$$

Ersetzt man $\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{b}$ mit $\mathbf{x}$, so berechnet sich der Ergebnisvektor nach dem gleichen Schema, wie im vorstehenden Kapitel beschrieben.

$$\frac{\partial \mathbf{x}}{\partial \alpha_{ij}} = -\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{E}_{ij} \cdot \mathbf{x} = -(\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{E}_{ij}) \cdot (\mathbf{E}_{1j} \cdot \mathbf{x}) = - \begin{vmatrix} \alpha_{1i}^* x_j \\ \alpha_{2i}^* x_j \\ \vdots \\ \alpha_{ni}^* x_j \end{vmatrix}$$

Die Änderung des k-ten Elementes (x_k) des Lösungsvektors $\mathbf{x}$ durch das Element α_{ij} der Koeffizientenmatrix lautet dann

$$\frac{\partial x_k}{\partial \alpha_{ij}} = -\alpha_{ki}^* x_j$$

oder, wenn die Fehler in allen Elementen einbezogen werden

$$d x_k = - \sum_{i=1}^N \alpha_{ki}^* x_j d \alpha_{ij} \quad [N = \text{Rang der Matrix } \mathbf{A}^{-1}]$$

5.1.6.4 Normen der Konditionierung

Ein Beurteilungskriterium eines Gleichungssystems, das neben der Ausgangsmatrix auch ihre Inverse berücksichtigt, ist die sogenannte Kondition einer Matrix [J. Stoer, 1972; H. Späth, 1973]. Sie ist ein Maß für die Empfindlichkeit des Lösungsvektors gegenüber Änderungen in der Eichmatrix, berücksichtigt also die oben angeführte Fehlerfortpflanzung. Die Berechnung von Konditionszahlen ist jedoch sehr viel einfacher als die Fehlerfortpflanzungsrechnung.

Allgemein ergibt sich die Konditionszahl aus Gleichung (26):

$$\text{Cond } |\mathbf{A}| = \|\mathbf{A}\| \cdot \|\mathbf{A}^{-1}\| > 0 \quad (26)$$

Unter $\|\mathbf{A}\|$ bzw. $\|\mathbf{A}^{-1}\|$ wird die Norm der Matrix verstanden. Als Normen werden neben anderen weniger gebräuchlichen [D.K. Faddejew, W.N.Faddejeva, 1975] -

- 1) die Zeilensummen-Norm
- 2) die Maximum-Norm
- 3) die euklidische oder Schur-Norm

herangezogen.

1) Zeilensummen-Norm

Hier wird die betragsmäßig größte Zeilensumme der Matrix als Norm herangezogen:

$$\|\mathbf{A}\| = \max_z \sum_{s=1}^N |\alpha_{zs}|$$

z = Zeile
s = Spalte
N = Rang der Matrix

und

$$\|\mathbf{A}^{-1}\| = \max_z \sum_{s=1}^N |\alpha_{zs}^*|$$

Als Konditionszahl ergibt sich

$$\text{Cond } |\mathbf{A}| = \max_z \sum_{s=1}^N |\alpha_{zs}| \cdot \max_z \sum_{s=1}^N |\alpha_{zs}^*| \quad (27)$$

2) Maximum-Norm

Diese ergibt sich aus dem betragsmäßig größten Element der Matrix:

$$\|\mathbf{A}\| = \max_{z,s} |\alpha_{zs}|$$

$$\|\mathbf{A}^{-1}\| = \max_{z,s} |\alpha_{zs}^*|$$

Als Konditionszahl ergibt sich:

$$\text{Cond } |\mathbf{A}| = \max_{z,s} |\alpha_{zs}| \cdot \max_{z,s} |\alpha_{zs}^*| \quad (28)$$

3) Euklidische oder Schur-Norm

Hierbei werden alle Elemente der Matrix berücksichtigt :

$$\| \mathbf{A} \| = \sqrt{\sum_{z=s=1}^N \alpha_{zs}^2}$$

$$\| \mathbf{A}^{-1} \| = \sqrt{\sum_{z=s=1}^N \alpha_{zs}^{*2}}$$

Als Konditionszahl folgt daraus :

$$\text{Cond } |\mathbf{A}| = \sqrt{\sum_{z=s=1}^N \alpha_{zs}^2} \cdot \sqrt{\sum_{z=s=1}^N \alpha_{zs}^{*2}} \quad (29)$$

An einem Beispiel sei die Berechnung der verschiedenen Konditionszahlen nochmals verdeutlicht :

Folgende Matrix $\mathbf{A}$:

$$\begin{vmatrix} 3.135 & 3.928 \\ 3.928 & 5.298 \end{vmatrix}$$

- wie sie sich z.B. in der UV-Spektroskopie bei der Auflösung überbestimmter Systeme ergibt - hat die

Inverse $\mathbf{A}^{-1}$:

$$\begin{vmatrix} 4.466 & -3.310 \\ -3.310 & 2.643 \end{vmatrix}$$

Als Konditionszahlen ergeben sich :

nach Gleichung (27) Zeilensummen-Norm : 71.754

nach Gleichung (28) Maximum-Norm : 23.664

nach Gleichung (29) Schur-Norm : 57.962

Mit Hilfe der Konditionszahl gelingt es, den Fehler im Lösungsvektor abzuschätzen. Er ist umso kleiner, je kleiner die Konditionszahl wird. Ziel der Optimierung wird es also sein, aus der gegebenen Fülle von Gleichungen das Gleichungssystem herauszusuchen, bei dem die Forderung

$$\text{Cond } |\mathbf{A}| \stackrel{!}{=} \min$$

erfüllt ist.

In einem Rechenprogramm ^{*)} wurden durch systematische Kombination aller Meßpunkte in verschiedenen Zweikomponentensystemen die Konditionszahlen berechnet. Die fünfzehn besten Wellenlängenkombinationen, also diejenigen mit der jeweils kleinsten Konditionszahl, wurden ausgesucht. Tabelle 5 bzw. 5a gibt einen Überblick über die Ergebnisse dieser Rechnungen.

Für die in der UV-Spektroskopie gegebene Problematik besteht zwischen den verschiedenen Normen offensichtlich kein Unterschied. Alle führen praktisch zum gleichen Ergebnis; die Bedingung $\text{Cond}|\mathbf{A}| \stackrel{!}{=} \min$ ist im allgemeinen bei den gleichen Wellenlängenkombinationen erfüllt, lediglich die Reihenfolge der ausgesuchten Wellenlängenkombinationen kann geringfügig variieren.

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Beispielen wurde deshalb nur eine der drei oben erwähnten Normen als Auswahlkriterium benutzt, und zwar die Zeilensummen-Norm.

^{*)} Siehe hierzu im Anhang: Unterprogramm MATCOND (8.3.1) in DIFF PAR 9.

Quantitative UV-Spektroskopie / Zweikomponenten-Analyse

Daten von File : 97 Analysennummer : 1 Prüfung auf Matrix-Konditionierung

1) Zeilensummen-Norm			2) Maximum-Norm			3) Schur-Norm (euklidische Norm)		
λ_1	λ_2	Kond. Zahl	λ_1	λ_2	Kond. Zahl	λ_1	λ_2	Kond. Zahl
242	278	1.49	242	278	1.04	246	278	2.14
246	274	1.58	242	270	1.10	242	278	2.14
246	278	1.59	258	278	1.12	246	274	2.16
246	273	1.61	242	274	1.12	248	278	2.17
242	274	1.62	246	274	1.12	246	273	2.18
248	274	1.66	246	273	1.13	242	282	2.18
242	273	1.66	242	273	1.13	248	274	2.18
248	278	1.68	238	282	1.14	242	274	2.19
248	273	1.70	248	274	1.17	250	278	2.20
242	282	1.70	248	273	1.18	248	273	2.20
250	274	1.74	254	274	1.18	242	273	2.21
250	278	1.76	258	274	1.18	250	274	2.22
250	273	1.78	246	278	1.19	246	282	2.23
246	282	1.87	254	273	1.19	250	273	2.24
246	270	1.89	250	274	1.20	248	282	2.28

Tabelle 5: Ergebnisse der Optimierungsrechnung MATCOND (Beispiel Coffein / Phenacetin).

Quantitative UV-Spektroskopie / Zweikomponenten-Analyse

Daten von File : 4 Analysennummer : 1 Prüfung auf Matrix-Konditionierung

1) Zeilensummen-Norm			2) Maximum-Norm			3) Schur-Norm (euklidische Norm)		
λ_1	λ_2	Kond. Zahl	λ_1	λ_2	Kond. Zahl	λ_1	λ_2	Kond. Zahl
266	294	6.14	266	292	1.75	264	296	4.44
264	294	6.15	264	294	1.79	266	294	4.44
264	296	6.27	266	294	1.80	264	294	4.45
266	296	6.31	264	292	1.82	266	296	4.51
268	294	6.31	268	292	1.84	262	296	4.53
262	294	6.41	268	294	1.90	268	294	4.57
262	296	6.47	262	294	1.90	262	294	4.63
266	292	6.51	270	292	1.99	268	296	4.71
268	296	6.54	264	296	1.99	270	294	4.78
264	292	6.61	266	296	2.02	260	296	4.87
270	294	6.62	270	294	2.05	266	292	4.92
268	292	6.65	262	292	2.08	264	298	4.95
270	296	6.88	262	296	2.10	268	292	4.96
270	292	6.94	268	296	2.13	270	296	4.98
272	294	6.96	268	290	2.14	262	298	4.99

Tabelle 5a: Ergebnisse der Optimierungsrechnung MATCOND (Beispiel ASAN / Aspirin) (S.Ebel, U.Steffens, 1974).

5.1.7 Vergleich Determinante - Konditionszahl

Abbildung 11 zeigt den Zusammenhang zwischen der Determinanten einer Matrix und deren Konditionszahl. Aus diesem Schaubild ist ersichtlich, daß beide Kriterien sehr eng miteinander verwandt sind, jedoch keinesfalls zu identischen Ergebnissen (d.h. Wellenlängenkombinationen) führen. Die Kombination mit der kleinsten Konditionszahl ist nicht zwangsläufig die mit der größten Determinante und umgekehrt. Der in Abbildung 11 gezeigte Zusammenhang zwischen Determinante und Konditionszahl wurde bei allen untersuchten Beispielen gefunden.

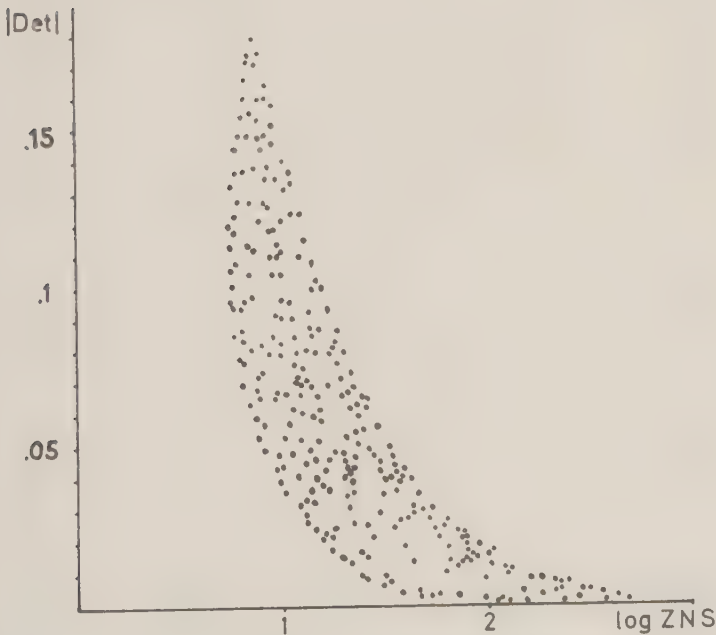


Abb. 11: Zusammenhang zwischen Determinante und Konditionszahl, berechnet nach der Zeilensummen-Norm.

5.1.8 Diskussion der verschiedenen Beurteilungskriterien an Hand von Beispielen

An zwei Beispielen sollen im folgenden die bisher erläuterten Optimierungskriterien - nämlich größte Selektivität, größte Determinante und kleinste Konditionszahl - diskutiert werden.

Es werden zwei Zweikomponenten-Analysen gegenübergestellt, die grundsätzlich verschieden sind.

Beispiel 1: Coffein - Phenacetin

Die Eichspektren dieser zwei Substanzen sind sehr unterschiedlich, die Maxima liegen weit auseinander (Abb. 12). Bei der Analytik solcher sich nur mäßig

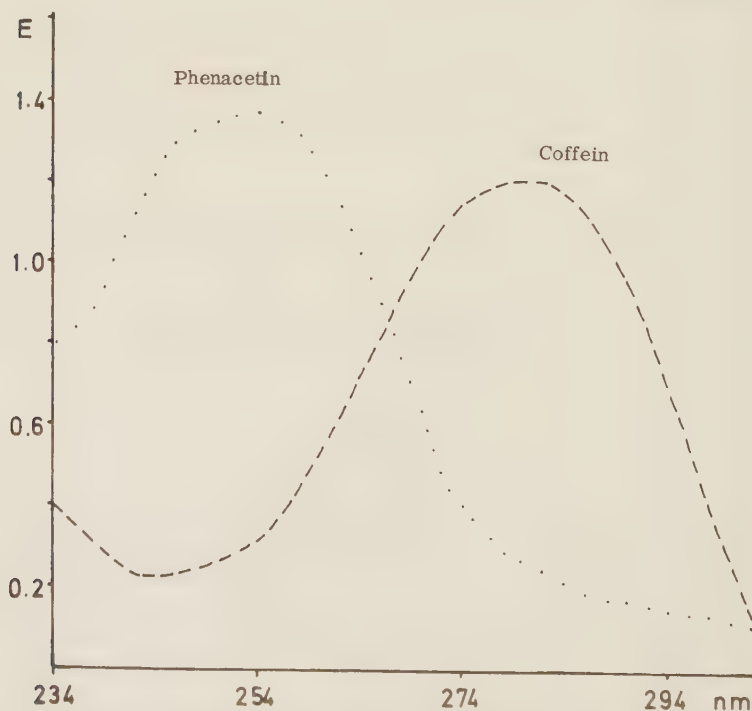


Abb.12: UV-Spektren Coffein - Phenacetin (näheres siehe Tab.6).

überlappenden Spektren ergeben sich im allgemeinen keine Probleme. Rein optisch bieten sich die Maxima als optimale Meßpunkte an.

Beispiel 2: ASAN - Aspirin *)

Bei diesem Beispiel sind die Eichspektren sehr ähnlich. Die Überlappung ist so groß, daß keine der beiden (Einzel)komponenten mehr das Analysenspektrum in seinem typischen Verlauf bestimmt. (Abb.13). Folglich gibt es auch keine ausgezeichneten Wellenlängen, die sich zur Auswertung ohne weiteres anbieten.

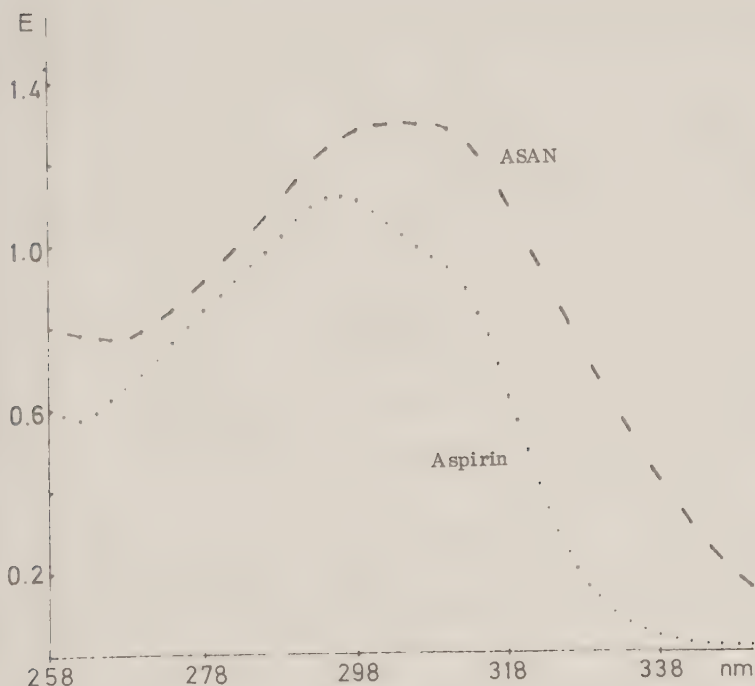


Abb.13: UV-Spektrum ASAN-Aspirin (näheres siehe Tab. 6a).

*) Die quantitative Erfassung von ASAN (Acetylsalicylsäureanhydrid) in Aspirin-haltigen Zubereitungen hat in letzter Zeit an Bedeutung gewonnen, da ASAN-Verunreinigungen in Aspirin als Ursache allergischer Reaktionen auf Aspirin nachgewiesen werden konnten (siehe Auslegeschrift 1923623, Mai 1969 - zur Analytik siehe auch H.Bundgaard, C.Bundgaard, 1973, und H.Bundgaard, 1974).

In der Literatur wird die Auffassung vertreten, daß die Lösung eines solchen Analysenproblems nur dann zur Zufriedenheit gelingt, wenn eine Vielzahl von Meßpunkten zur Auswertung herangezogen wird. "Je größer die Unterschiede der physikalischen Eigenschaften (hier Absorptionsspektren) sind, desto kleiner wird der Streubereich für die Konzentrationsbestimmung" (H.Kienitz, 1958; vgl. hierzu auch H.Sattler, 1966). Daher soll bei geringen Unterschieden der Eigenschaftsfunktionen durch Ausnutzung von redundanten Messungen die Information über die Unterschiede vergrößert werden; es soll - gerade bei sehr ähnlichen Spektren, wie überhaupt bei allen anderen Problemstellungen - mit wachsender Anzahl der Meßpunkte die Genauigkeit der Ergebniskonzentrationen immer weiter ansteigen. Diese Aussage - die sich theoretisch begründen läßt [Kleine Enzyklopädie Mathematik, 1972] - trifft hier jedoch nur bedingt zu. Alle in der Literatur beschriebenen Beweise gehen von der - wie oben gezeigt wurde - nicht richtigen Annahme aus, daß alle Meßpunkte einen gleich großen, lediglich statistisch bedingten Streubereich, d.h. gleiche Präzision aufweisen. Mit Erweiterung des Meßbereichs, d.h. steigender Anzahl der Meßpunkte, werden zwangsläufig Meßpunkte auf den Flanken mit immer größer werdenden Meßfehlern in die Auswertung einbezogen. Die Erwartung, daß eine Erhöhung der Datenzahl unbedingt eine Verbesserung der Aussagekraft der Analyse mit sich bringt, bestätigt sich in diesem Falle nicht. Vielmehr ergibt sich durch die Einbeziehung ungünstiger Daten (z.B. Extinktionen nahe Null) eine Vergrößerung des Fehlers in der Lösung (vgl.Abschn. 5.3.1 und E.Glaser, 1977).

Das Beispiel ASAN - Aspirin soll zeigen, daß eine Auswertung mit einem bestimmten System auch bei problematischen Spektren dann zu guten Ergebnissen führt, wenn zur Auswahl der optimalen Meßpunkte das richtige Kriterium herangezogen wurde.

Die Tabellen 6 und 6a geben eine Übersicht über die Ergebnisse, die bei Anwendung der bisher erwähnten Auswahlkriterien gewonnen wurden.

Coffein - Phenacetin						
Kriterien	WL		Coffein		Phenacetin	
	λ_1	λ_2	$\bar{x}$ [%]	s rel [%]	$\bar{x}$ [%]	s rel [%]
Maxima	250	273	99.37	1.04	100.33	0.52
größte Selektivität	246	278	100.03	1.07	100.31	0.64
größte Determinante	250	274	99.68	1.27	100.31	0.54
kleinste Kond. Zahl	242	278	99.70	0.96	100.25	0.68
—	234 - 294 m = 18		99.68	1.09	100.19	0.60

Tabelle 6: Auswertungen an Wellenlängen, die nach verschiedenen Kriterien ausgewählt wurden.

Konzentrationen: Coffein: 0.13 mg/100 ml
 Phenacetin: 0.4 m /100 ml

Lösungsmittel: Isopropanol

Spektralphotometer: PE 124

Zahl der Analysen: 10

ASAN - Aspirin						
Kriterien	WL		ASAN		Aspirin	
	λ_1	λ_2	$\bar{x}$ [%]	s rel [%]	$\bar{x}$ [%]	s rel [%]
Maxima	276	282	99.01	1.31	101.78	2.4
größte Selektivität	268	302	100.29	0.93	100.29	1.81
größte Determinante	276	292	99.83	0.83	99.69	0.89
kleinste Kond. Zahl	266	294	99.92	0.59	99.75	0.64
—	258 - 344 m = 24		99.90	0.58	99.76	0.33

Tabelle 6a: Auswertungen an Wellenlängen, die nach verschiedenen Kriterien ausgewählt wurden.

Konzentrationen: ASAN: 1.5 mg/100 ml

Aspirin: 6.9 mg/100 ml

Lösungsmittel: Äthylacetat / Cyclohexan (1:2)

Spektralphotometer: ZEISS PMQ II

Zahl der Analysen: 23

5.1.8.1 Coffein - Phenacetin

Bei dem Beispiel Coffein-Phenacetin führen die verschiedenen Auswahlkriterien zu gleichen oder sehr ähnlichen Ergebnissen. Die Meßpunkte in den Maxima führen zu Gleichungssystemen, die die Forderungen aller Auswahlkriterien gleichermaßen erfüllen. Allgemein wurde festgestellt: Je weiter die Maxima der Spektren auseinanderklaffen, d.h. je geringer die Bandenüberlappung ist, desto ähnlicher fallen die Ergebnisse der verschiedenen Beurteilungsmethoden aus. In solchen Fällen genügt es, die optimale Wellenlängenkombination rein optisch aus dem Verlauf der Eichspektren zu bestimmen.

5.1.8.2 ASAN - Aspirin

Umgekehrt wurde festgestellt: Je größer die Bandenüberlappung der Eichspektren ist, desto unterschiedlicher fallen die Ergebnisse der Beurteilungsmethoden aus. Hier genügt eine subjektive Auswahl der Meßstellen nicht mehr. Es muß eine objektive Auswahl nach mathematischen Kriterien getroffen werden.

Als bestes Kriterium erwies sich bei zahlreichen untersuchten Zweikomponenten-Analysen die Konditionierung der Matrix. Die Auswertung mit Wellenlängenkombinationen, die auf diese Weise ausgesucht wurden, führen in der Regel ^{*)} zu ähnlich guten Ergebnissen wie die Auswertung stark überbestimmter Systeme.

Zwischen Konditionszahl und Ergebnisgüte wurde innerhalb gewisser Grenzen ein linearer Zusammenhang gefunden. Kleine Konditionszahlen führen zu kleinen relativen Standardabweichungen im Ergebnis. Im Bereich sehr großer Konditionszahlen ist dieser lineare Zusammenhang nicht mehr gewahrt. Vielmehr führen sehr schlecht konditionierte Systeme zu überaus fehlerhaften, oft völlig unsinnigen Ergebnissen mit entsprechender Streuung.

5.2 Bestimmung von NebenkompONENTEN

Analysen, bei denen der Anteil beider Komponenten am Analysenspektrum etwa gleich groß ist, bieten in der Regel hinsichtlich der Auswahl der Wellenlängen keine Schwierigkeiten. Die bisher erläuterten Beurteilungsmethoden, die ja nur die Eichmatrix für die Auswahl der Meßpunkte heranziehen, genügen hier.

Analysenspektren, in denen eine Komponente dominiert, sind problematischer (R.C.Shah, P.V.Raman, B.U.Shah, 1963): alle in Gleichung (3) bzw. (3a) enthaltenen Fehler wirken sich auf die Ergebniskonzentration der untergeordneten Komponenten (NebenkompONENTE ^{**)}) weitaus stärker aus, als auf die Ergebniskonzentration der dominierenden Komponenten. In der Praxis zeigte sich, daß die bisher erläuterten Verfahren hier nicht genügen. Es wurde deshalb eine Optimierungsmethode gesucht, die auch in solchen Fällen gute Ergebnisse verspricht.

*) Ausnahmen werden im nächsten Kapitel erläutert.

**) Die Bezeichnung NebenkompONENTE bezieht sich lediglich auf den Verlauf des UV-Spektrums. So kann z.B. eine Komponente mit hoher Konzentration aber sehr kleinem $\log-\epsilon$ -Wert neben einer in geringer Konzentration vorliegenden Substanz mit sehr großem $\log-\epsilon$ -Wert vom Spektrenverlauf her betrachtet zur untergeordneten Komponente werden.

Die im folgenden behandelten Optimierungsrechnungen berücksichtigen zusätzlich zu den Fehlern in der Eichmatrix auch die Präzision der rechten Seite des Gleichungssystems ^{*)}. Die Fehlerfortpflanzung der Analysendaten auf dem Lösungsvektor soll zunächst theoretisch erläutert werden.

5.2.1 Fortpflanzung von Fehlern in den Analysendaten

Sind nicht die Koeffizienten der Eichmatrix fehlerbehaftet, sondern die Elemente der rechten Seite, so ergibt sich der Fehler im Lösungsvektor wie folgt:

$$\mathbf{x} = \mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{b}$$

$$\frac{\partial \mathbf{x}}{\partial \beta_i} = \frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \beta_i} \cdot \mathbf{b} + \mathbf{A}^{-1} \cdot \frac{\partial \mathbf{b}}{\partial \beta_i}$$

Die Elemente der Inversen sind von den β_i unabhängig; daher gilt:

$$\frac{\partial \mathbf{A}^{-1}}{\partial \beta_i} = 0$$

Also:

$$\frac{\partial \mathbf{x}}{\partial \beta_i} = \mathbf{A}^{-1} \frac{\partial \mathbf{b}}{\partial \beta_i}$$

$\frac{\partial \mathbf{b}}{\partial \beta_i}$ ergibt den i-ten Einheitsvektor, $\mathbf{e}_i$ d.h. das i-te Element ist Eins, während alle anderen Elemente verschwinden.

$$\mathbf{e}_i : \begin{pmatrix} \vdots \\ 0 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \\ \vdots \end{pmatrix} \leftarrow i$$

^{*)} Nach Stoer (1972) ist die Konditionszahl nicht nur ein Maß für die Störempfindlichkeit der Lösung gegenüber Fehlern in der Eichmatrix, sondern gleichzeitig ein Maß für die Empfindlichkeit der Lösung gegenüber Änderungen der rechten Seite des Gleichungssystems (hier: Extinktionen der Analyse). Bei der Berechnung der Konditionszahl bleibt jedoch die rechte Seite völlig unberücksichtigt.

$\mathbf{A}^{-1} \cdot \frac{\partial \mathbf{b}}{\partial \beta_i}$ entspricht also dem Vektor $\mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{e}_i$. Für eine 2×2 -Matrix und $i = 2$ ergibt sich z.B.:

$$\mathbf{A}^{-1} \cdot \begin{bmatrix} \alpha_{11}^* & \alpha_{12}^* \\ \alpha_{21}^* & \alpha_{22}^* \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix} = \mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{e}_i$$

Für die Änderung des Elementes k (x_k) im Vektor $\mathbf{x}$ durch einen Fehler im Element β_i resultiert:

$$\frac{\partial x_k}{\partial \beta_i} = \alpha_{ki}^*$$

oder

$$d x_k = \alpha_{ki}^* \cdot d \beta_i$$

Berücksichtigt man - wie zuvor - alle Fehler des Vektors $\mathbf{b}$, so ergibt sich

$$d x_k = \sum_{i=1}^N \alpha_{ki}^* \cdot d \beta_i$$

[N = Ordnung des Vektors $\mathbf{x}$]

Allgemein gilt für ein in $\mathbf{A}$ und $\mathbf{b}$ fehlerbehaftetes lineares Gleichungssystem auf Grund der Regeln der partiellen Differentiationen, daß sich der Fehler in der Lösung $\mathbf{x}$ additiv aus den Fehlern in $\mathbf{A}$ und $\mathbf{b}$ zusammensetzt [D.K.Faddejew, W.N. Faddejewa, 1975].

In der Praxis zeigte sich, daß bei Analysen, in denen eine Komponente dominiert, ein bestimmtes Gleichungssystem nicht ausreicht, selbst dann nicht, wenn zur Auffindung optimaler Wellenlängenkombinationen die Fehlerfortpflanzung aller auftretenden Fehler berücksichtigt wurde *).

*) Diese Optimierungsmethode, die alle auftretenden Fehler berücksichtigt, wird im Kapitel 5.3.2 bei der Behandlung überbestimmter Systeme eingehend erläutert. Das zugrundeliegende Prinzip dieser Methode ist für bestimmte und überbestimmte Gleichungssysteme dasselbe (siehe 5.3.2 und 8.3.1, Programm: DIFF PAR 6 für bestimmte Gleichungssysteme und DIFF PAR 9 für überbestimmte Gleichungssysteme mit $m = N+1$). Deshalb wird hier auf die Erläuterung der Methode verzichtet.

Die im Gleichungssystem enthaltenen Fehler wirken sich auf die Ergebniskonzentration der untergeordneten Komponenten weitaus stärker aus als auf die Ergebniskonzentration der dominierenden Komponente.

Aus diesem Grunde wurden zur Berechnung von Analysen mit derartiger Problematik überbestimmte Gleichungssysteme herangezogen.

5.3 Überbestimmte Gleichungssysteme

Ebenso wie bei bestimmten Systemen stellt sich bei überbestimmten die Frage, welche Meßpunkte optimale Ergebnisse versprechen. Zusätzlich muß die Frage geklärt werden, wie groß die Zahl der redundanten Messungen sein soll.

5.3.1 Güte der Ergebnisse in Abhängigkeit von der Zahl der Meßpunkte

Um das Problem zu klären, wie groß die Überbestimmung des zur Auswertung herangezogenen Gleichungssystems sein soll, wurden folgende Untersuchungen angestellt:

Ein pharmazeutisch relevantes Zweikomponenten-Gemisch, nämlich Sulfadiazin und Trimethoprim, diente als Beispiel für die im folgenden beschriebenen Untersuchungen. Die Komponente Sulfadiazin ist in pharmazeutischen Zubereitungen meist fünfmal so hoch dosiert wie die Komponente Trimethoprim. Darüberhinaus sind die spezifischen Extinktionskoeffizienten des Trimethoprim im untersuchten Wellenlängenbereich niedrig im Vergleich zu den spezifischen Extinktionskoeffizienten des Sulfadiazins.

Die quantitative Bestimmung von Trimethoprim als untergeordnete Komponente bietet also die größere Schwierigkeit. Im folgenden soll an Hand von zwei Untersuchungen gezeigt werden, wie sich die Güte der Ergebniskonzentration für die Komponente Trimethoprim mit steigender Überbestimmung ändert.

Eine Zweipunktauswertung, z.B. an den Wellenlängen 224 nm und 240 nm zeigt einen Mittelwert von 100.68 % und eine relative Standardabweichung von ± 1.57 % (genaue Daten zur Meßreihe siehe Tab.1).

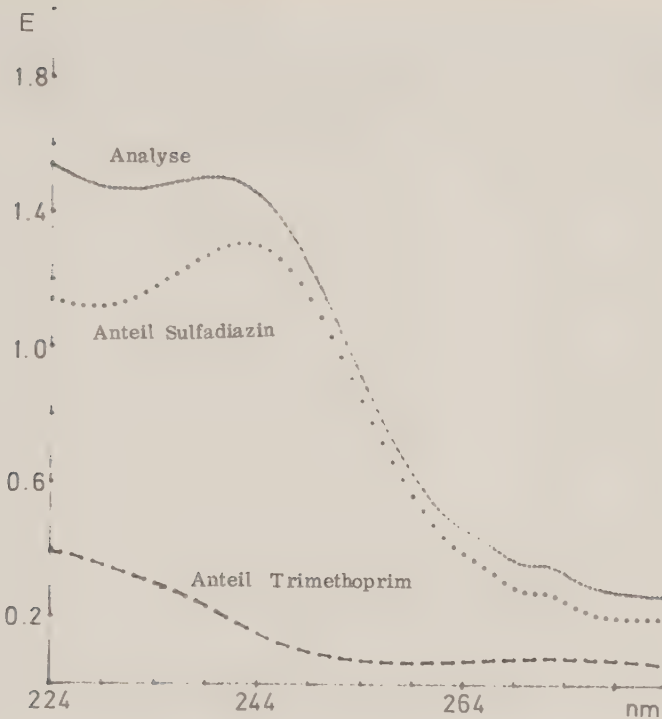


Abb.14: UV-Spektren Sulfadiazin - Trimethoprim (näheres siehe Tab.1).

Aus dem vorliegenden Datenmaterial (14 äquidistante Meßpunkte im Wellenlängenbereich von 224 nm bis 276 nm) wurden unter Beibehaltung der Wellenlänge 224 nm und 240 nm die Ergebnisse aller möglichen Dreierkombinationen berechnet. Von den 13 möglichen Dreierkombinationen zeigen 11 gegenüber der Zweipunktauswertung keine signifikante Änderung von Mittelwert und relativer Standardabweichung; bei zwei Kombinationen (224, 240, 244 nm; 224, 240, 252 nm) ergibt sich neben verbesserten Mittelwerten auch eine (signifikante) Verbesserung der relativen Standardabweichung von 0.5 % (siehe Tab.7).

Wellenlängen in nm				$\bar{x}$ [%]	s rel [%]
1.	224	<u>228</u>	240	101.45	1.63
2.	224	<u>232</u>	240	100.85	1.59
3.	224	<u>236</u>	240	100.58	1.48
4.	224	240	<u>244</u>	100.01	0.96 !
5.	224	240	<u>248</u>	100.57	1.41
6.	224	240	<u>252</u>	99.78	0.99 !
7.	224	240	<u>256</u>	100.25	1.43
8.	224	240	<u>260</u>	100.38	1.67
9.	224	240	<u>264</u>	100.58	1.45
10.	224	240	<u>268</u>	100.64	1.57
11.	224	240	<u>270</u>	100.63	1.56
12.	224	240	<u>272</u>	100.67	1.57
13.	224	240	<u>276</u>	100.68	1.57

Tabelle 7: Mittelwerte und relative Standardabweichungen von Trimethoprim (n = 16; m = 3). Unterstrichene Wellenlängen wurden zur Zweierkombination 224, 240 nm hinzugenommen.

Eine der beiden signifikant besseren Dreierkombinationen wurde zu Viererkombinationen erweitert. Es zeigt sich (Tab.8), daß die Hinzunahme eines vierten Punktes keine signifikante Änderung in Mittelwert und relativer Standardabweichung bringt.

Erweitert man jedoch eine Dreierkombination mit weniger gutem *) Ergebnis (z.B. 224, 236, 240 nm) um einen vierten Punkt, so zeigen von 11 möglichen Kombinationen zwei eine signifikante Besserung, während bei allen anderen Kombinationen die Ergebnisse sozusagen keine Änderung erfahren (siehe Tab. 9).

*) Unter Kombination mit weniger gutem Ergebnis werden hier solche verstanden, die eine relative Standardabweichung > 1 % oder Mittelwert < 99 % und > 101 % aufweisen.

Wellenlänge in nm					$\bar{x}$ [%]	s rel [%]
1.	224	<u>228</u>	240	244	100.75	0.85
2.	224	<u>232</u>	240	244	100.22	0.87
3.	224	<u>236</u>	240	244	100.04	0.98
4.	224	240	240	<u>248</u>	100.24	1.07
5.	224	240	244	<u>252</u>	99.70	0.91
6.	224	240	244	<u>256</u>	99.93	0.99
7.	224	240	244	<u>260</u>	99.96	1.13
8.	224	240	244	<u>264</u>	99.98	0.98
9.	224	240	244	<u>268</u>	100.01	0.97
10.	224	240	244	<u>272</u>	100.02	0.95
11.	224	240	244	<u>276</u>	100.00	0.92

Tabelle 8: Mittelwerte und relative Standardabweichungen von Trimethoprim (n = 16; m = 4). Unterstrichene Wellenlängen wurden zur Dreierkombination 224, 240, 244 nm hinzugenommen.

Wellenlängen in nm					$\bar{x}$ [%]	s rel [%]
1.	224	<u>228</u>	236	240	101.38	1.49
2.	224	<u>232</u>	236	240	100.77	1.47
3.	224	236	240	<u>244</u>	100.04	1.08 !
4.	224	236	240	<u>248</u>	100.63	1.25
5.	224	236	240	<u>252</u>	99.80	1.01 !
6.	224	236	240	<u>256</u>	100.25	1.24
7.	224	236	240	<u>260</u>	100.36	1.66
8.	224	236	240	<u>264</u>	100.45	1.42
9.	224	236	240	<u>268</u>	100.57	1.50
10.	224	236	240	<u>272</u>	100.55	1.49
11.	224	236	240	<u>276</u>	100.58	1.48

Tabelle 9: Mittelwerte und relative Standardabweichungen von Trimethoprim (n = 16; m = 4). Unterstrichene Wellenlängen wurden zur Dreierkombination 224, 236, 240 nm hinzugenommen.

Diese Betrachtungen machen deutlich:

Bei der Bestimmung von NebenkompONENTEN ist ein weniger gutes Ergebnis einer Zweipunktauswertung durch Hinzunahme eines dritten Punktes dann entscheidend zu verbessern, wenn aus der Vielzahl der Wellenlängen die richtige selektiert wird. Ein gutes Ergebnis einer Dreierkombination ist durch Hinzunahme eines vierten Punktes nicht weiter zu verbessern. Wohl aber kann ein vierter Punkt schlechte Ergebnisse von Dreierkombinationen dann verbessern, wenn wiederum der richtige Punkt selektiert wird.

Noch größere Überbestimmung ($m = 26$) führt im betrachteten und anderen untersuchten Beispielen gegenüber der Auswertung mit einer optimalen 3-Wellenkombination nicht zu einer Verbesserung der Ergebnisse. Die Auswertung der betrachteten Analysen mit 26 Meßpunkten im Wellenlängenbereich 224 bis 324 nm zeigt einen Mittelwert von 99.76 % und eine relative Standardabweichung von 1.27 % für Trimethoprim.

Untersucht man systematisch die Ergebnisgüte in Abhängigkeit von der Zahl der Meßpunkte, so ergibt sich der in Abbildung 15 gezeigte Zusammenhang.

Es wurde aus dem vorliegenden Datenmaterial (14 äquidistante Meßpunkte im Wellenlängenbereich 224 - 276 nm) - bei variierender Zahl der Meßpunkte von 2 bis 13 - durch systematische Kombination der Wellenlängen alle Ergebnisse einer Analysenreihe berechnet ($n = 16$).

Zu jeder möglichen Kombination ^{*)} wurde die relative Standardabweichung der Trimethoprim-Ergebnisse bestimmt. Abbildung 15 gibt eine Übersicht über die prozentuale Häufigkeit der Kombinationen innerhalb jeder Klasse, die Standardabweichungen ≤ 1.0 aufweisen. Die prozentuale Häufigkeit der Ergebnisse mit $s_{rel} \leq 1.0\%$ erreicht bei $m = 6$ bzw. $m = 7$ ein Maximum und fällt dann mit wachsender Überbestimmung. Es ist also keineswegs so, daß die Wahrscheinlichkeit, die optimalen Wellenlängen durch zufällige Kombination zu finden, mit wachsender Überbestimmung zunimmt.

*) Die Zahl der möglichen Kombinationen von m Elementen aus k Elementen C_k^m (Kombination zur m -ten Klasse aus k Elementen) berechnet sich nach

$$C_k^m = \left(\frac{k}{m} \right) = \frac{k}{(k-m)! m!} .$$

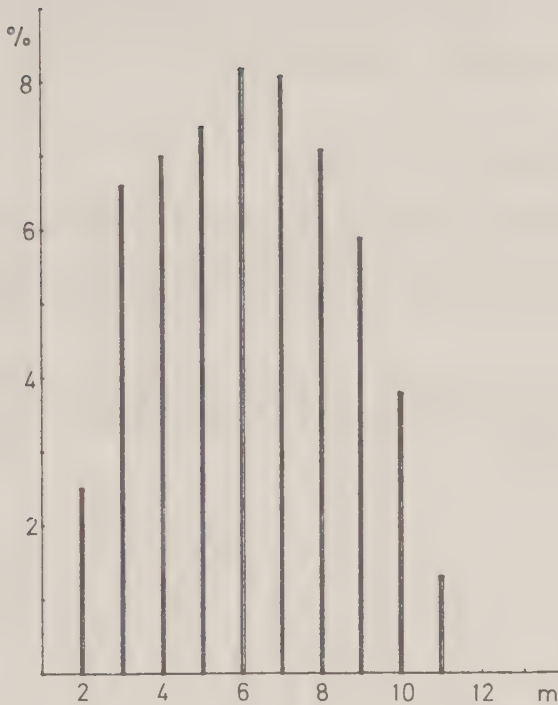


Abb.15: Erläuterung siehe Text.

Aus dem Diagramm (Abb.15) ist ersichtlich, daß die größte Präzisionssteigerung zwischen Zweipunktauswertung (bestimmtes Gleichungssystem) und Dreipunktauswertung (gerade noch überbestimmtes Gleichungssystem) zu beobachten ist.

Aus diesen Ergebnissen folgt :

1. Für eine Zweikomponentenanalyse mit einer Nebenkompente ist die geringste Überbestimmung ($m = N + 1$) ausreichend.
2. Es ist allerdings notwendig - wie auch beim bestimmten Gleichungssystem - ,die richtigen Meßwellenlängen nach objektiven Kriterien zu selektieren.

Zur Auswahl von optimalen Dreierkombinationen aus gegebenem Datenmaterial wurden zwei Verfahren entwickelt. Beide Optimierungsverfahren bedienen sich des in 3.2 formulierten Extinktionsfehlers.

5.3.2 Optimierungsverfahren DIFF PAR 9

Das Optimierungsverfahren DIFF PAR 9 (genaue Programmbeschreibung siehe Anhang 8.3.1) ermittelt über Fehlerfortpflanzungsrechnung die optimale 3-Wellenlängenkombination, bei der die Fehler des Ergebnisvektors $\mathbf{c}$ minimal sind.

Nach den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung ist der Fehler einer Funktion f definiert in Abhängigkeit der Fehler bzw. der Standardabweichungen σ_{p_i} der einzelnen Parameter p_i .

$$\sigma_f = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial p_i} \right)^2 \cdot \sigma_{p_i}^2} \quad [n = \text{Zahl der Parameter}]$$

Die Funktion für die Ergebniskonzentration $c_{a,A}$ lautet - bei Auswertung mit 3 Wellenlängen

$$c_{a,A} = \frac{\sum E_{ai} \alpha_i \sum \beta_i^2 - \sum E_{ai} \beta_i \sum \alpha \beta}{\sum \alpha_i^2 \sum \beta_i^2 - (\sum \alpha_i \beta_i)^2} = \frac{A}{N}$$

Σ steht für: $\sum_{i=1}^3$

A = Zähler der Ergebnisfunktion $c_{a,A}$

N = Nenner der Ergebnisfunktion $c_{a,A}$

Nach der Quotientenregel ergibt sich als Ableitung dieser Funktion nach den fehlerbehafteten Meßparametern ϵ_i :

$$\frac{\partial c_{a,A}}{\partial \epsilon_i} = \frac{\partial A}{\partial \epsilon_i} \cdot N - \frac{\partial N}{\partial \epsilon_i} \cdot A \quad / N^2$$

Als fehlerbehafteten Meßparameter gehen in die Berechnung der Konzentration also 9 Extinktionen ein:

3 Meßpunkte der Eichdaten der Substanz A: $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$

3 Meßpunkte der Eichdaten der Substanz B: $\beta_1, \beta_2, \beta_3$

3 Meßpunkte des Analysenspektrums : E_{a1}, E_{a2}, E_{a3}

Die partiellen Differentiale von A bzw. N nach den α_i, β_i bzw. E_{ai} lauten:

$$\frac{\partial A}{\partial \alpha_i} = E_{ai} \sum \beta_j^2 - \beta_i \sum E_{aj} \beta_j = dA(\alpha_i)^*)$$

$$\frac{\partial A}{\partial \beta_i} = 2 \beta_i \sum E_{aj} \alpha_j - \alpha_i \sum E_{aj} \beta_j - E_{ai} \sum \alpha_j \beta_j = dA(\beta_i)$$

$$\frac{\partial A}{\partial E_{ai}} = \alpha_i \sum \beta_j^2 - \beta_i \sum \alpha_j \beta_j = dA(E_{ai})$$

$$\frac{\partial N}{\partial \alpha_i} = 2 \alpha_i \sum \beta_j^2 - 2 \beta_i \sum \alpha_j \beta_j = dN(\alpha_i)$$

$$\frac{\partial N}{\partial \beta_i} = 2 \beta_i \sum \alpha_j^2 - 2 \alpha_i \sum \alpha_j \beta_j = dN(\beta_i)$$

*) $\sum$ steht für $\sum_{j=1}^3$
 $i \neq j$

Somit ergibt sich:

$$\frac{\partial c_{a,A}}{\partial \alpha_i} = [dA(\alpha_i) \cdot N - dN(\alpha_i) \cdot A] / N^2 = dc_{a,A}(\alpha_i)$$

$$\frac{\partial c_{a,A}}{\partial \beta_i} = [dA(\beta_i) \cdot N - dN(\beta_i) \cdot A] / N^2 = dc_{a,A}(\beta_i)$$

$$\frac{\partial c_{a,A}}{\partial E_{ai}} = dA(E_{ai}) / N = dc_{a,A}(E_{ai})$$

Bei Anwendung des Fehlerfortpflanzungsgesetzes auf diese Funktionen ergibt sich:

$$\sigma_{c_{a,A}} = \sqrt{\sum_{i=1}^3 [dc_{a,A}(\alpha_i)]^2 \sigma_{\alpha_i}^2 + \sum [dc_{a,A}(\beta_i)]^2 \sigma_{\beta_i}^2 + \sum [dc_{a,A}(E_{ai})]^2 \cdot \sigma_{E_{ai}}^2}$$

Die Standardabweichungen σ_{e_i} der herangezogenen Meßpunkte sind mit Gleichung (17) zu berechnen.

Durch systematische Kombination aller vorliegenden Meßpunkte werden die Kombinationen ausgewählt, bei denen die kleinsten $\sigma_{a,A}$ vorliegen. Um die Zahl der möglichen Kombinationen zu verkleinern (und damit den Rechengang abzukürzen), werden von vornherein diejenigen Meßpunkte eliminiert, bei denen eine der drei Extinktionen (α_i , β_i oder E_{ai}) einen relativen Fehler $> 2\%$ aufweist. Zusätzlich werden die Konditionszahlen der ausgewählten Kombinationen berechnet, um schlecht konditionierte Gleichungssysteme auszuschließen *).

Analog berechnet sich der Fehler in $c_{a,B}$. Die Ergebnisfunktion für $c_{a,B}$ sowie deren partielle Ableitungen erhält man durch Vertauschen von α und β in allen zuvor aufgeführten Ausdrücken.

Da der Funktionsansatz für die Fehlerfortpflanzungsrechnung für die beiden Komponenten unterschiedlich ist, werden durch die Optimierungsrechnung unter Umständen unterschiedliche Wellenlängenkombinationen ausgewählt. Da aber die Ergebnissgüte der dominierenden Komponenten von der ausgewählten Wellenlängenkombination relativ unabhängig ist, gelingt es, mit der optimalen Wellenlängenkombination für

*) Es genügt bei problematischen Analysen mit NebenkompONENTEN nicht, wie in 5.1.6.4 beschrieben, allein die Konditionszahl der Gleichungssysteme als Optimierungskriterium heranzuziehen. Hierbei überdauern Meßpunkte mit großen relativen Extinktionsfehlern den Optimierungsprozeß unangefochten. Diese Tatsache führt in der Regel zu weniger zufriedenstellenden Ergebnissen für die NebenkompONENTE. So weist bei der zuvor schon als Beispiel angeführten Zweikomponenten-Analyse (Trimethoprim - Suldiazin 1:5) die Wellenlängenkombination mit der kleinsten Konditionszahl (280, 312, 320 nm) für die NebenkompONENTE eine relative Standardabweichung von 2.37 % bei einem Mittelwert von 98.06 % auf.

beide Substanzen gute Ergebnisse zu erzielen *).

Unter den ausgewählten Dreierkombinationen ist diejenige die beste, die gleichzeitig einen kleinen $\sigma_{c_{a,A}}$ - bzw. $\sigma_{c_{a,B}}$ -Wert und eine möglichst kleine Konditionszahl aufweist.

*) Analog zum Programm DIFF PAR 9 kann auch für bestimmte Gleichungssysteme eine Optimierungsrechnung durchgeführt werden. Die Ergebnisfunktion des bestimmten Gleichungssystems

$$c_{a,A} = \frac{E_{a1} \beta_2 - E_{a2} \beta_1}{\alpha_1 \beta_2 - \alpha_2 \beta_1} = \frac{A}{N} \quad \text{bzw.} \quad c_{a,B} = \frac{\alpha_1 E_{a2} - \alpha_2 E_{a1}}{\alpha_1 \beta_1 - \alpha_2 \beta_1} = \frac{B}{N}$$

wird nach den fehlerbehafteten Extinktionen ($\alpha_1, \beta_1, E_{a1}, \alpha_2, \beta_2, E_{a2}$) differenziert; die partiellen Differentiale (siehe Tab.10) werden nach den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung verknüpft und man erhält z.B. für Substanz A:

$$\sigma_{c_{a,A}}^2 = \frac{\beta_2^2}{N^2} \sigma_{E_{a1}}^2 + \frac{\beta_1^2}{N^2} \sigma_{E_{a2}}^2 + \frac{\beta_2^2 A^2}{N^4} \sigma_{\alpha_1}^2 + \frac{\beta_1^2 A^2}{N^4} \sigma_{\alpha_2}^2 + \\ + \frac{(\alpha_2 A - E_{a2} N)^2}{N^4} \sigma_{\beta_1}^2 + \frac{(E_{a1} N - \alpha_1 A)^2}{N^4} \sigma_{\beta_2}^2$$

Der so erhaltene Fehler $\sigma_{c_{a,A}}$ läßt sich in zwei Terme aufspalten:

$$\sigma_{c_{a,A}}^2(\mathbf{S}) = \frac{A^2}{N^4} [\beta_2^2 \sigma_{\alpha_1}^2 + \beta_1^2 \sigma_{\alpha_2}^2] + \frac{1}{N^4} [\alpha_2 A - E_{a1} N]^2 \cdot \sigma_{\beta_1}^2 + (\alpha_1 A - E_{a1} N)^2 \cdot \sigma_{\beta_2}^2 \\ \sigma_{c_{a,A}}^2(\mathbf{a}) = \frac{1}{N^2} [\beta_2^2 \sigma_{E_{a1}}^2 + \beta_1^2 \sigma_{E_{a2}}^2]$$

Durch Vertauschen von α und β , A und B und der Indices gelten die angegebenen Gleichungen auch für $\sigma_{c_{a,B}}$. Während der erste Term $\sigma_{c_{a,A}}(\mathbf{S})$ nur von den Stammdaten abhängt - der Betrag von E_{a1} und E_{a2} ist aus den Stammdaten berechenbar -, ist der zweite Term $\sigma_{c_{a,A}}(\mathbf{a})$ ein Maß für den Einfluß von Meßfehlern der Analyse auf das Ergebnis $c_{a,A}$.

	$\frac{\partial c_{a,A}}{\dots}$	$\frac{\partial c_{a,B}}{\dots}$
$\frac{\dots}{\partial \alpha_1}$	$-\beta_2 \cdot A/N^2$	$(E_{a2} \cdot N - \beta_2 \cdot B)/N^2$
$\frac{\dots}{\partial \alpha_2}$	$\beta_1 \cdot A/N^2$	$(-E_{a1} \cdot N + \beta_1 \cdot B)/N^2$
$\frac{\dots}{\partial \beta_1}$	$(-E_{a2} \cdot N + \alpha_2 \cdot A)/N^2$	$\alpha_2 \cdot B/N^2$
$\frac{\dots}{\partial \beta_2}$	$(E_{a1} \cdot N - \alpha_1 \cdot A)/N^2$	$-\alpha_1 \cdot B/N^2$
$\frac{\dots}{\partial E_{a1}}$	β_2 / N	$-\alpha_2 / N$
$\frac{\dots}{\partial E_{a2}}$	$-\beta_1 / N$	α_1 / N

Tabelle 10: Partielle Differentiale zur Optimierungsrechnung DIFF PAR 9.

Tabelle 11 zeigt am Beispiel der Zweikomponenten-Analyse Sulfadiazin - Trimethoprim (Dosierung 5:1) die Ergebnisse der Optimierungsrechnung. Aufgeführt sind die aus der Rechnung resultierenden optimalen Wellenlängenkombinationen mit den vorausberechneten, theoretischen, maximalen Ergebnisfehlern und den Konditionszahlen.

OPTIMALE WELLENLÄNGE FÜR SUBSTANZ A

Wellenlängen (nm)			Fehler [%]	Konditionszahl
224	228	248	5.58	27.01
224	248	252	5.64	10.72
224	244	248	5.73	11.55
224	228	244	5.83	30.92
224	248	256	5.86	12.65
224	244	252	5.86	12.62
228	248	252	5.98	10.21
224	232	248	5.99	25.69
228	244	248	6.09	11.53
224	248	260	6.09	14.51

OPTIMALE WELLENLÄNGE FÜR SUBSTANZ B

Wellenlängen (nm)			Fehler [%]	Konditionszahl
224	244	248	1.21	11.55
228	244	248	1.25	11.53
224	248	252	1.27	10.72
228	248	252	1.30	10.21
224	244	252	1.30	12.62
228	244	252	1.34	12.45
232	244	248	1.37	16.46
224	248	256	1.38	12.65
224	240	248	1.39	16.60
232	248	252	1.39	12.68

Tabelle 11: Theoretische Ergebnisse der Optimierungsrechnung DIFF PAR 9;
Beispiel Sulfadiazin - Trimethoprim .

5.3.2.1 Beurteilung der Dreipunktauswertung

Tabelle 11a zeigt, daß die Auswertung mit drei nach Methode DIFF PAR 9 berechneten Punkten zu vergleichbar guten, meistens sogar deutlich besseren Ergebnissen führt wie ein Fehlerausgleich über 26 Punkte (siehe Tab. 1: $\bar{x} = 99.76\%$, $s_{rel} = 1.27\%$ für Trimethoprim).

Wellenlängen (nm)			$\bar{x}$ [%]	s_{rel} [%]
224	228	248	100.11	0.96
224	248	252	100.07	1.07
224	244	248	100.22	1.07
224	228	244	100.39	0.72
224	248	256	100.35	1.17
224	244	252	99.61	0.92
228	248	252	100.44	0.77
224	232	248	100.17	1.15
228	244	248	100.35	1.07
224	248	260	100.42	1.39

Tabelle 11a: Praktische Ergebnisse zu Tabelle 11; aufgeführt sind nur die Ergebnisse für die Nebenkompente Trimethoprim. Die relative Standardabweichung für die Komponente Sulfadiazin beträgt für alle Kombinationen ca. 0.4 %.

Selbst eine extreme Erhöhung der Meßpunkte bringt gegenüber der Dreipunktauswertung keine Verbesserung sondern eine Verschlechterung. Eine Auswertung mit $m = 250$ im Meßbereich 224 - 324 nm zeigt eine relative Standardabweichung von 2.6 % bei einem Mittelwert von 98.0 ($n = 12$).

Als Dreierkombination mit dem besten theoretischen Ergebnis sind die Wellenlängen 228, 248, 252 nm anzusehen, also die Kombination, die neben einem kleinen vorausberechneten σ_{ca} -Wert die kleinste Konditionszahl aufweist.

Vergleicht man die vorausberechneten Ergebnisfehler (Tab.11) mit den praktischen (Tab.11a), so stellt man eine Abweichung um den Faktor 5 für Trimethoprim und den Faktor 3 für Sulfadiazin fest. Daraus ist ersichtlich, daß

der vorausberechnete Ergebnisfehler tatsächlich der Fehler ist, der sich unter den ungünstigsten Konstellationen ergibt. Zwar unterscheiden sich praktische und theoretische Fehler um einen für jede Analysenmeßreihe konstanten Faktor, doch ist zwischen beiden Größen ein linearer Zusammenhang gegeben. Tabelle 12 bzw. Abbildung 16 zeigen diesen linearen Zusammenhang.

Wellenlänge (nm)			vorausberechneter Fehler [%] (DIFF PAR 9)	praktischer Fehler [%] s rel
244	246	248	73.57	7.52
244	246	250	19.27	1.56
244	246	252	8.44	0.96
244	246	254	4.84	0.56
244	246	256	3.31	0.34
244	246	258	2.53	0.20
244	246	260	2.10	0.24
244	246	262	1.81	0.31
244	248	250	24.21	2.67
244	248	252	9.27	0.87
244	248	254	5.08	0.54
244	248	256	3.41	0.31
244	248	258	2.57	0.27
244	248	260	2.12	0.22
244	248	262	1.82	0.30
244	250	252	10.90	0.95
244	250	254	5.71	0.68
244	250	256	3.69	0.37
244	250	258	2.71	0.29
244	250	260	2.19	0.22
244	250	262	1.86	0.22
244	252	254	5.79	0.61
244	252	256	3.86	0.36

Tabelle 12: Zusammenhang zwischen theoretischen und praktischen Fehlern für die Komponente Metaqualon im Zweikomponentengemisch Metaqualon - Pentobarbital; genaue Daten zur Meßreihe siehe Tabelle 2.

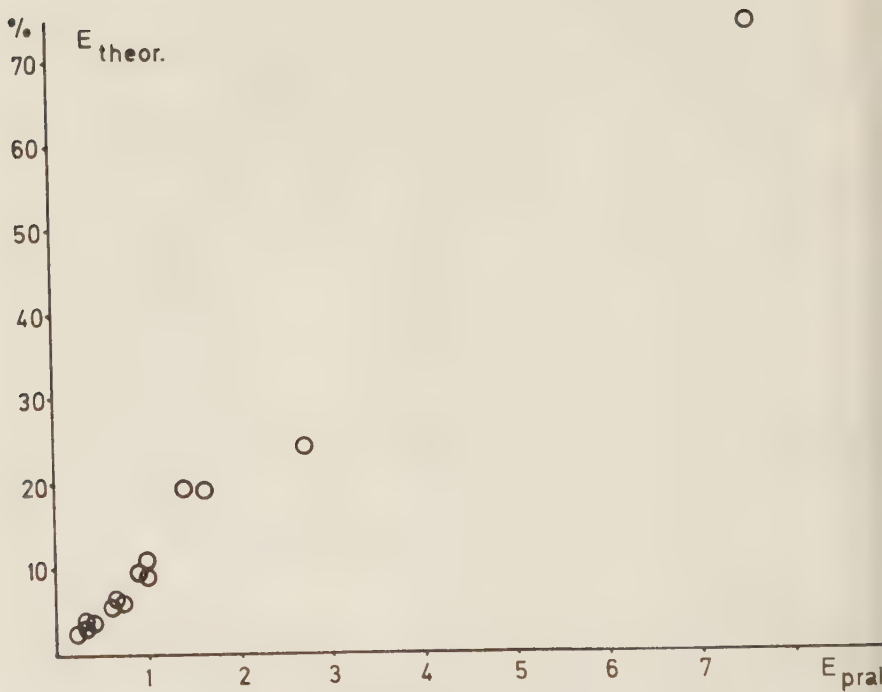


Abb.16: Graphische Darstellung von Tabelle 12.

Die Reproduzierbarkeit beim n-maligen Vermessen einer Analyse ist bei den nach DIFF PAR 9 ausgesuchten Wellenlängenkombinationen außerordentlich hoch. Sie liegt beim betrachteten Beispiel Sulfadiazin - Trimethoprim bei $s_{rel} = 0.10\%$ bzw. 0.18% (Tab.13). Der durch die Fehler in den Analysenextinktionen gegebene Unterschied in den Ergebniskonzentrationen ist, wie aus dieser Tabelle ersichtlich, sehr gering.

Sulfadiazin [%]	Trimethoprim [%]
100.24	100.38
100.21	100.30
100.15	100.32
100.38	100.21
100.27	100.17
.	.
.	.
.	.
100.16	100.43
100.16	100.47
100.20	100.50
$\bar{x} = 100.24 \%$	$\bar{x} = 100.41 \%$
$s_{rel} = 0.10 \%$	$s_{rel} = 0.18 \%$

Tabelle 13: Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der Zweikomponenten-Analyse Sulfadiazin - Trimethoprim (Auswertung an den Wellenlängen 228, 248, 252 nm) (n = 40).

Die Optimierungsmethode DIFF PAR 9 kann zusammenfassend folgendermaßen beurteilt werden:

Die Auswertung mit drei als optimal erkannten Wellenlängen führt zu vergleichbar guten Ergebnissen wie die Auswertung mit $m \gg N$ Wellenlängen.

Die Reproduzierbarkeit der Methode ist außerordentlich hoch.

Allerdings ist diese Auswertemethode anfällig für grobe Fehler, sowohl in der Stammdatenmatrix als auch im Analysendatenvektor. Hier treten grobe Fehler sofort zu Tage, so daß die Notwendigkeit zur Datenüberprüfung aus dem Analysenergebnis offensichtlich wird. Dagegen werden grobe Fehler durch die Ausgleichsrechnung stark überbestimmter Systeme unter Umständen soweit geglättet, daß sie sich in der Ergebniskonzentration weniger bemerkbar machen.

Daher bietet die Auswertung an drei Wellenlängen neben der großen Zeitersparnis bei Messung und Auswertung ^{*)} den Vorteil, daß grob fehlerhaftes Arbeiten sofort augenfällig wird.

5.3.3 Optimierungsverfahren FEHLFORT DE

Das dieser Optimierungsmethode zugrundeliegende Prinzip basiert auf folgender Überlegung:

Die mit Hilfe von Funktion (17) berechenbaren Extinktionsfehler des Analysenvektors erlauben es, die Fehler in den Ergebniskonzentrationen nach folgendem Ansatz zu berechnen:

$$\begin{array}{rcl} \sigma c_{a,A} \cdot \alpha_1 + \sigma c_{a,B} \cdot \beta_1 & = & \sigma E_{a1} \\ \sigma c_{a,A} \cdot \alpha_2 + \dots & & \cdot \\ \cdot & & \cdot \\ \cdot & & \cdot \\ \cdot & & \cdot \\ \sigma c_{a,A} \cdot \alpha_m + \sigma c_{a,B} \cdot \beta_m & = & \sigma E_{am} \end{array}$$

Durch systematische Kombination der einzelnen Gleichungen - wiederum zu je drei - wird dasjenige Gleichungssystem selektiert, das den kleinsten Fehler in $c_{a,A}$ oder in $c_{a,B}$ liefert.

Jeder simulierte Fehler in der Analysenextinktion σE_{ai} kann sowohl positiv als auch negativ angesetzt werden. Innerhalb jeder Dreierkombination werden daher alle Variationsmöglichkeiten von positiven und negativen Fehlern berücksichtigt. Es ergeben sich 8 Variationen, von denen je zwei zu betragsmäßig identischen Ergebnissen führen (Tab.14). Es genügt daher, in der Optimierungsrechnung die ersten vier Fehlervariationen aus Tabelle 14 zu berücksichtigen. Der Mittelwert dieser vier Ergebnisse jeder Dreierkombination wird als Kriterium zur Beurteilung des Gleichungssystems herangezogen.

^{*)} Die Lösung überbestimmter Systeme mit nur drei Gleichungen für zwei Unbekannte gelingt schon mit einfachen Tischrechnern oder Taschenrechnern (z.B. Diehl Combitron S, Hewlett-Packard, Model 25 oder Model 65), während zur Auswertung stark überbestimmter Systeme Rechner mit größerer Speicherkapazität erforderlich sind.

	σE_{a1}	σE_{a2}	σE_{a3}
1.	+	+	+
2.	-	+	+
3.	+	-	+
4.	+	+	-
5.	-	-	+
6.	-	+	-
7.	+	-	-
8.	-	-	-

Tabelle 14: Variationsmöglichkeiten von positiven und negativen Extinktionsfehlern im Analysenvektor.

Um auch hier wie bei der Optimierungsmethode DIFF PAR 9 die Fehler der Eichmatrix in die Rechnung einzubeziehen, wurde jede Gleichung mit einem Wichtungsfaktor versehen, der sich aus den Extinktionsfehlern der Eichdaten nach Gleichung (19) berechnet.

Wichtungsfaktor für die Optimierung der Substanz A :

$$pA_i = \left[\frac{1}{\sigma \alpha_i \text{ rel}} \right]^2$$

Analog wird der Wichtungsfaktor für die Optimierung der Substanz B aus den Eichdaten β_i berechnet:

$$pB_i = \left[\frac{1}{\sigma \beta_i \text{ rel}} \right]^2$$

Das zur Lösung führende, mit Wichtungsfaktoren versehene Gleichungssystem lautet damit :

$$\begin{vmatrix} \sum (\alpha_i pA_i)^2 & \sum \alpha_i \beta_i pA_i^2 \\ \sum \alpha_i \beta_i pA_i^2 & \sum (\beta_i pA_i)^2 \end{vmatrix} \cdot \begin{vmatrix} \sigma c_{a,A} \\ \sigma c_{a,B} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \sum \sigma E_{ai} \alpha_i pA_i^2 \\ \sum \sigma E_{ai} \beta_i pA_i^2 \end{vmatrix}$$

Die mit Hilfe dieser Optimierungsrechnung ^{*)} ausgewählten Wellenlängenkombinationen, die vorausberechneten maximalen Ergebnisfehler und Konditionszahlen sind in Tabelle 15 - wieder am Beispiel Sulfadiazin - Trimethoprim - aufgeführt.

Auswahl der 10 besten Wellenlängenkombinationen für Substanz Trimethoprim mit Wichtung Standarddaten A :						
Wellenlängen (nm)			Fehler Trim.[%]	Fehler Sulfad.[%]	Konditionsz.	
224	248	256	3.65	0.92	12.64	
224	228	248	3.68	1.29	27.00	
224	248	252	3.73	0.91	10.71	
224	228	244	3.86	1.26	30.92	
228	248	252	4.07	0.88	10.20	
228	248	256	4.15	0.96	11.99	
224	244	260	4.16	1.09	17.45	
228	252	256	4.29	1.06	13.78	
228	232	248	4.34	1.35	25.30	
224	232	248	2.35	1.35	25.69	

Auswahl der 10 besten Wellenlängenkombinationen für Substanz Sulfadiazin mit Wichtung Standarddaten B :						
Wellenlängen (nm)			Fehler Trim.[%]	Fehler Sulfad.[%]	Konditionsz.	
224	244	248	3.63	0.81	11.55	
224	248	252	3.59	0.84	10.71	
228	244	248	4.05	0.85	11.52	
224	244	252	3.68	0.87	12.62	
228	248	252	3.98	0.87	10.20	
224	248	256	3.78	0.91	12.64	
228	244	252	4.10	0.91	12.45	
224	240	248	3.80	0.91	16.60	
232	244	248	4.91	0.94	16.45	
232	248	252	4.85	0.94	12.68	

Tabelle 15: Theoretische Ergebnisse der Optimierungsrechnung FEHLFORT DE; Beispiel Sulfadiazin - Trimethoprim.

^{*)}

Auch bei diesem Optimierungsverfahren werden zur Verkürzung der Rechenoperation die Gleichungen von vorneherein eliminiert, in denen relative Extinktionsfehler > 2% vorausberechnet wurden.

5.3.3.1 Beurteilung der Dreipunktauswertung

Die nach Methode FEHLFORT DE selektierten Wellenlängenkombinationen sind weitestgehend identisch mit den nach DIFF PAR 9 ausgewählten.

Tabelle 15a zeigt die praktischen Ergebnisse der Dreipunktauswertungen nach FEHLFORT DE.

Wellenlängen (nm)			$\bar{x}$ [%]	s rel [%]
224	248	256	100.35	1.17
224	228	248	100.11	0.96
224	248	252	100.07	1.07
224	228	244	100.39	0.72
228	248	252	100.44	0.77
228	248	256	100.35	0.83
224	244	260	99.78	1.17
228	252	256	100.18	1.04
228	232	248	100.20	1.17
224	232	248	100.17	1.15

Tabelle 15a: Praktische Ergebnisse zu Tabelle 15; relative Standardabweichungen der Substanz Trimethoprim.

Da sich die Ergebnisse der Optimierungsmethoden FEHLFORT DE und DIFF PAR 9 nahezu decken, trifft alles, was in 5.3.2.1 zur Beurteilung des Verfahrens DIFF PAR 9 gesagt wurde, auch hier zu.

5.4 Ergebnisse von Dreipunktauswertungen - einige Beispiele

Zusammenfassend soll nochmals betont werden, daß mit geringster Überbestimmung bei richtiger Selektierung der Wellenlängen nach objektiven Kriterien ebenso gute, oft bessere Ergebnisse erreicht werden können als mit großer Überbestimmung. An verschiedenen Beispielen soll dies nochmals verdeutlicht werden.

Alle im folgenden gezeigten Beispiele sind Zweikomponenten-Analysen, in denen die eine Komponente dominiert.

In den aufgeführten Tabellen werden nur die Ergebnisse der NebenkompONENTEN angegeben.

Benzoessäure - PHB-Methylester

Konzentrationen: B: 0.9 mg/100 ml
 PHB-M: 0.08 mg/100 ml
 Lösungsmittel: 0.5 n HCl
 Spektralphotometer: PMQ II, Zeiss
 PE 124
 Zahl der Analysen: 13

Wellenlängen [nm] ausgewählt nach			s rel [%] PMQ II	s rel [%] PE 124
DIFF PAR9 bzw. FEHLFORT DE				
230	254	258	1.38	1.26
234	254	258	1.32	1.21
238	254	258	1.34	1.21
230	258	262	1.41	0.92
230	254	262	1.21	0.96
234	258	262	1.36	0.96
234	254	262	1.13	0.98
230	250	258	1.46	1.16
230	250	262	1.25	1.00
238	258	262	1.35	1.05

Tabelle 16: Ergebnisse von Dreipunktauswertungen;
 m = 13 (230 - 278 nm; PMQ II); s rel = 1.34 %
 m = 41 (230 - 270 nm; PE 124); s rel = 1.03 %

Die relative Standardabweichung der Komponente Benzoessäure liegt bei allen Auswertungen bei ca. 0.5 % .

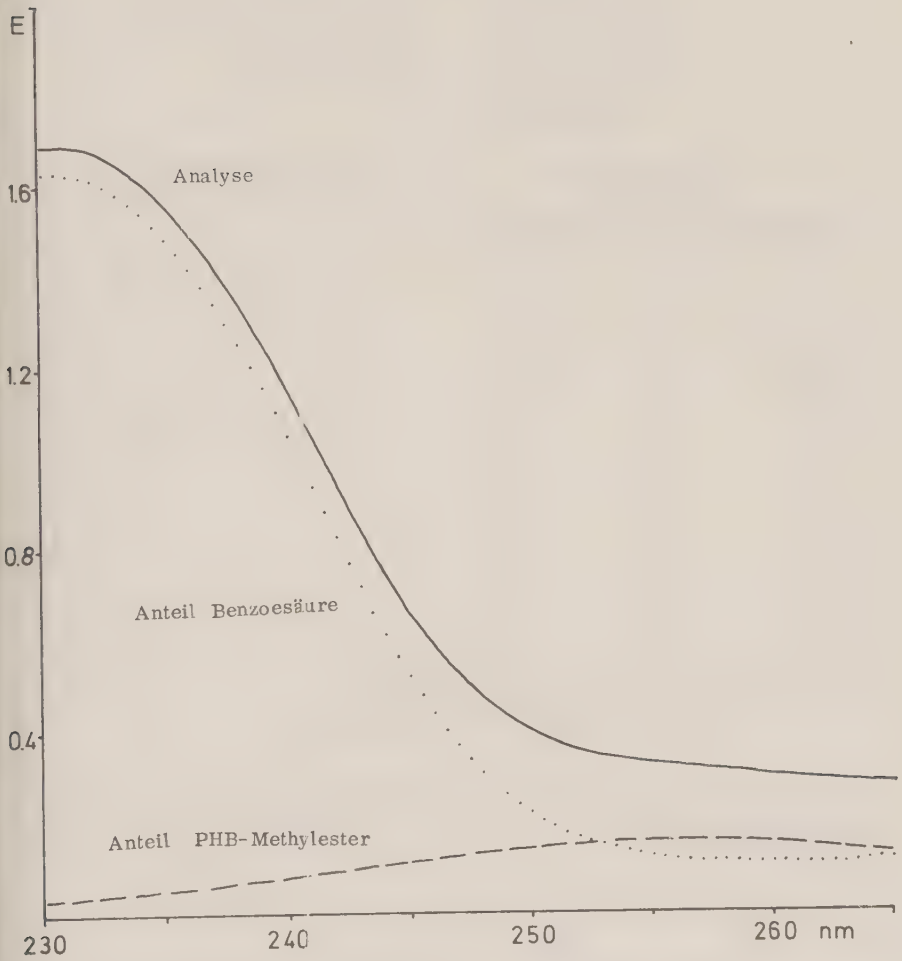


Abb.17: UV-Spektren Benzoessäure - PHB-Methylester (näheres siehe Tab.16).

Sulfadiazin - Trimethoprim

Konzentrationen: S: 1 mg/100 ml
T: 0.1 mg/100 ml
Lösungsmittel: 0.1 n HCl
Spektralphotometer: PMQ II, Zeiss
PE 124
Zahl der Analysen: 16

Wellenlängen [nm] ausgewählt nach			s rel [%] PMQ II	s rel [%] PE 124
DIFF PAR 9 bzw. FEHLFORT DE				
224	226	246	1.60	1.23
224	244	248	1.62	1.07
224	248	250	1.64	1.14
224	248	246	1.64	1.31
224	244	250	1.60	1.24
224	226	244	1.49	1.22
224	228	246	1.69	1.25
224	228	244	1.41	1.28
224	230	246	1.74	1.23
224	228	250	1.27	1.04

Tabelle 17: Ergebnisse von Dreipunktauswertungen;
m = 33 (224 - 288 nm): s rel = 1.36 %
m = 49 (224 - 272 nm): s rel = 1.25 %

Die relative Standardabweichung der Komponente Sulfadiazin liegt bei allen Auswertungen bei ca. 0.35 % .

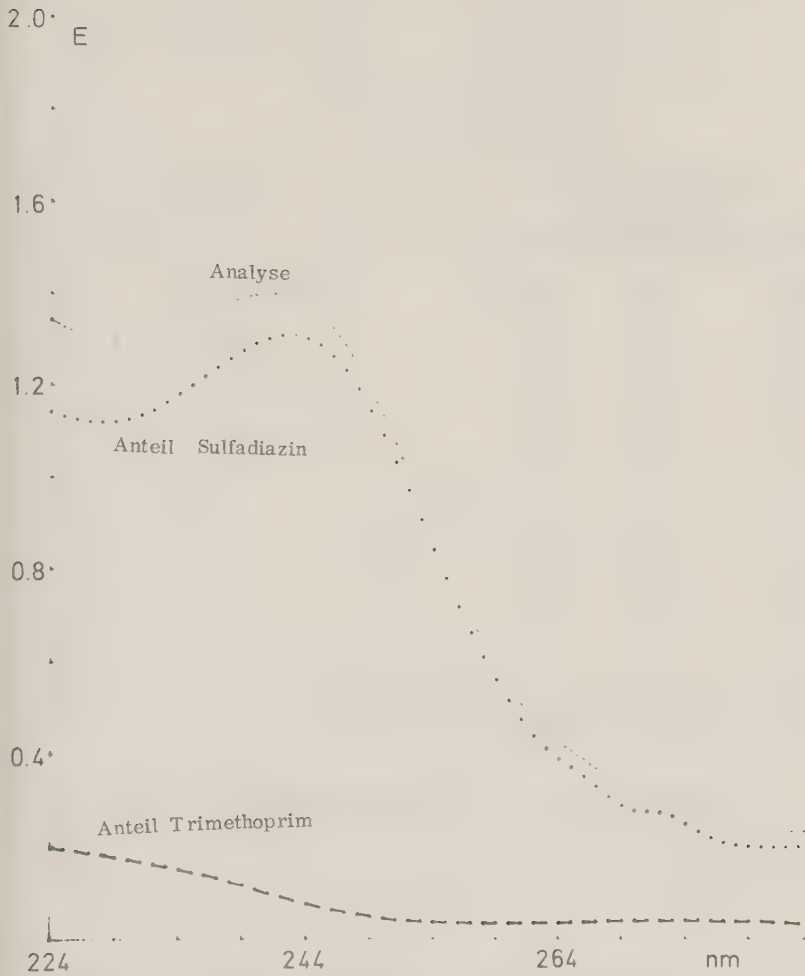


Abb.18: UV-Spektren Sulfadiazin - Trimethoprim (näheres siehe Tab.17).

Sulfanilamid - Sulfadiazin

Konzentrationen: S-amid: 8 mg/100 ml
S-azin: 2 mg/100 ml
Lösungsmittel: 0.1 n HCl
Spektralphotometer: PE 575
Zahl der Analysen: 10

Wellenlängen [nm] ausgewählt nach DIFF PAR 9 bzw. FEHLFORT DE			s rel [%] PE 575
268	286	289	0.33
262	286	289	0.24
265	286	289	0.31
268	283	289	0.29
262	283	289	0.20
268	280	289	0.31
265	283	289	0.32
259	286	289	0.23
268	283	286	0.33
271	286	289	0.49

Tabelle 18: Ergebnisse von Dreipunktauswertungen;
m = 41 (256 - 296 nm): s rel = 0.28 %

Die relative Standardabweichung der Komponente Sulfadiazin liegt bei allen Auswertungen bei ca. 0.1 % .

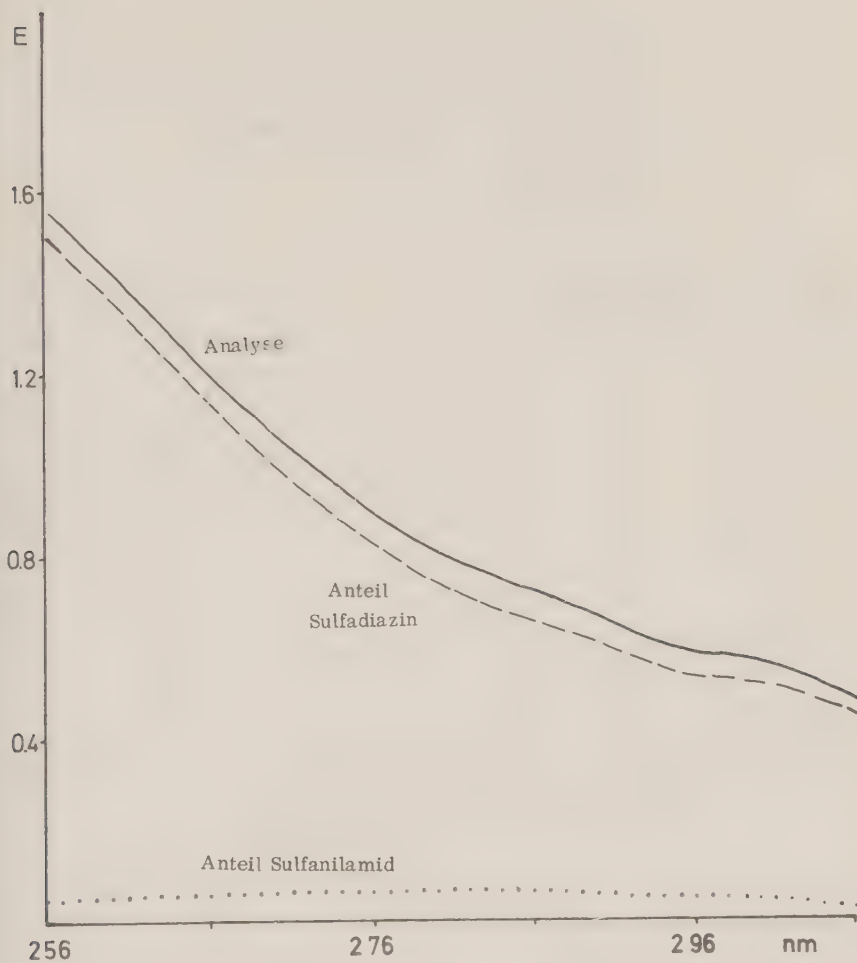


Abb.19: UV-Spektren Sulfanilamid - Sulfadiazin (näheres siehe Tab.18).

Benzoessäure - PHB-Methylester

Konzentrationen: B: 0.1 mg/100 ml
 PHB-M: 0.8 mg/100 ml
 Lösungsmittel: 0.5 n HCl
 Spektralphotometer: PE 124
 Zahl der Analysen: 12

Wellenlängen [nm] ausgewählt nach DIFF PAR 9 bzw. FEHLFORT DE			s rel [%] PE 124
230	232	258	0.63
230	232	250	0.61
230	233	262	0.74
230	233	257	0.64
230	233	254	0.62
230	233	251	0.66
230	233	248	0.60
230	233	245	0.70
230	232	264	0.76
230	232	262	0.68

Tabelle 19: Ergebnisse von Dreipunktauswertungen;
 m = 41 (230 - 270 nm); s rel = 0.75 %

Die relative Standardabweichung der Komponente PHB-Methylester liegt bei allen Auswertungen bei ca. 0.45 % .

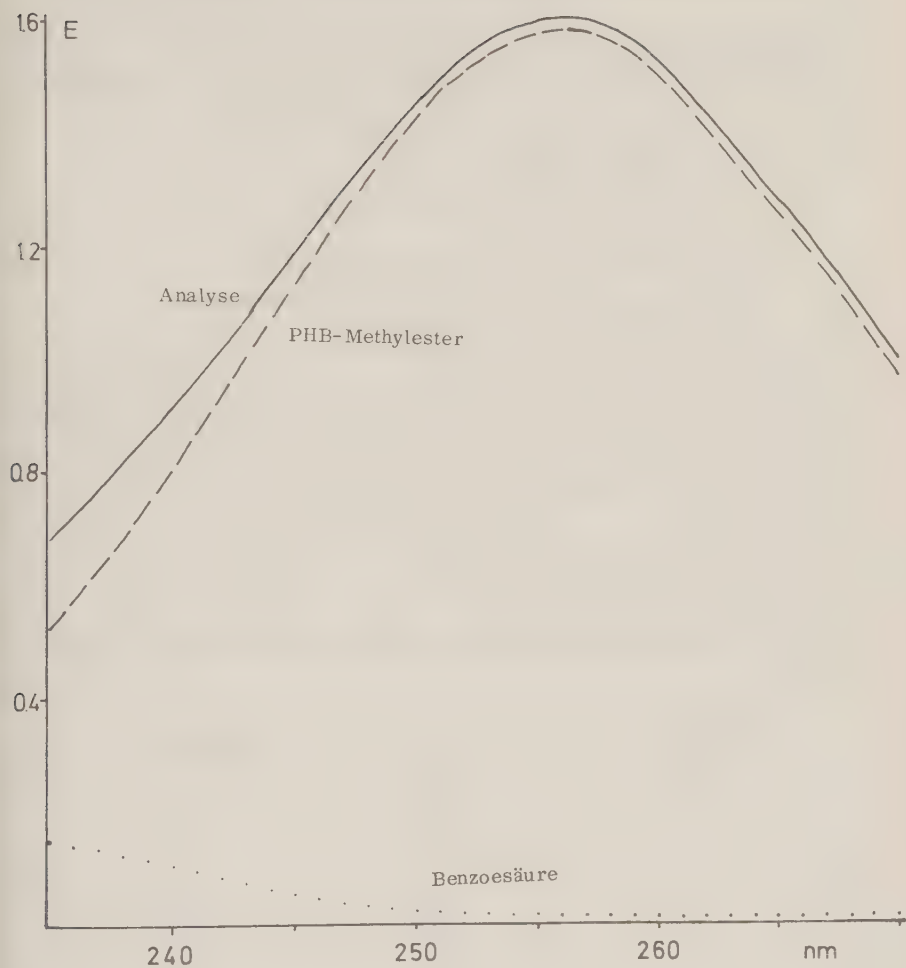


Abb. 20: UV-Spektren Benzoessäure - PHB-Methylester (näheres siehe Tab. 19).

6. Analytik einer Arzneizubereitung (Sulfadiazin - Trimethoprim -Tabletten)

Diese Arzneispezialität mit den Wirkkomponenten Sulfadiazin (250 mg) und Trimethoprim (50 mg) befindet sich z.Zt. noch nicht im Handel. Die analysierten Tabletten wurden vor der Messung folgendermaßen aufbereitet :

- 1) Wägung der Tablette
- 2) Überführung der Tablette in einen 500 ml-Meßkolben, Auffüllen mit 0.1 n HCl
- 3) Abfiltrieren der ungelösten Tablettierhilfsstoffe
- 4) 3 ml Filtrat in einen 100 ml-Meßkolben pipettieren, Auffüllen mit 0.1 n HCl.

Es resultiert eine Lösung, die 1.5 mg Sulfadiazin und 0.3 mg Trimethoprim in 100 ml enthalten soll. Diese Lösung wurde an den nach IMFF PAR 9 berechneten Wellenlängen 228, 248 und 252 nm vermessen (Spektralphotometer PE 124). Zur Erstellung der Eichmatrix wurden von beiden Substanzen je 10 exakt hergestellte Lösungen ($n_E = 10$) an den drei Wellenlängen vermessen (Konzentrationen der Eichlösungen: Sulfadiazin: 2.25 mg, Trimethoprim: 1.5 mg/100 ml). Die Eichextinktion für jede Wellenlänge ergab sich aus dem Mittelwert der zehn Messungen. Die Einzelergebnisse der analysierten Tabletten sind in Tabelle 20 aufgeführt.

Tablette Nr.	Sulfadiazin [%]	Trimethoprim [%]
1	99.28	93.52
2	101.68	97.91
3	98.00	96.04
4	98.37	96.58
5	98.36	96.60
6	96.89	93.90
7	97.87	98.75
8	97.15	96.68
9	98.36	97.00
10	97.04	96.93

Tabelle 20: Tablettenanalysen Sulfadiazin - Trimethoprim (Einzelergebnisse).

Die Wägungen der Tabletten ergaben einen Mittelwert von 0.5975 g (Sollgewicht 0.6 g) mit einer relativen Standardabweichung von 1.2 % .

Ein Zusammenhang zwischen Tablettengewicht und Analysenergebnis konnte nicht gefunden werden.

7. Schlußbetrachtungen

7.1 Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden die in der quantitativen UV-Spektroskopie bevorzugt angewandten Auswertemethoden (bestimmtes und überbestimmtes Gleichungssystem) hinsichtlich ihrer Fehleranfälligkeit diskutiert. Zur Minimierung der Fehleranfälligkeit werden verschiedene Verfahren vorgestellt.

Da die Unschärfen in den Ergebniskonzentrationen hauptsächlich auf die Fehler der Extinktionsmessung zurückzuführen sind, wird zunächst eine Fehlerfunktion der zur Auswertung zur Verfügung stehenden Spektren erarbeitet und praktisch belegt. Diese Fehlerfunktion erlaubt es, jedem Meßpunkt innerhalb eines Spektrums eine Güteziffer zuzuordnen.

Aus den Güteziffern werden die optimalen Arbeitsbedingungen für Einkomponenten-Analysen abgeleitet. Es wird mathematisch bewiesen, daß die Überbestimmung einer Einkomponenten-Analyse gegenüber der Einpunktauswertung im Maximum keine Verbesserung des Analysenergebnisses bringt.

Zur Festlegung optimaler Arbeitsbedingungen bei Zweikomponenten-Analysen werden für bestimmte Gleichungssysteme verschiedene Verfahren diskutiert bzw. vorgestellt.

- 1) größte Selektivität
- 2) größte Determinante
- 3) kleinste Konditionszahl

Die Verfahren 1 und 2 ziehen als Beurteilungskriterium nur die Stammdatenmatrix heran, während Methode 3 zusätzlich deren - häufig zur Auswertung herangezogene - Inverse berücksichtigt. Aus diesem Grunde erweist sich die Konditionszahl der Auswertungsmatrix als bestes Beurteilungskriterium. Der Einfluß der Fehler in der Stammdatenmatrix und deren Inverse auf die Ergebnisse wird mit Hilfe der Fehlerfortpflanzungsrechnung dargelegt.

Zur Bestimmung von Nebenkomponten erweisen sich die bisher angeführten Beurteilungskriterien von bestimmten Gleichungssystemen als ungeeignet. In diesem Falle ist es notwendig, zur Auswertung überbestimmte Gleichungssysteme heranzuziehen. Der Einfluß der Größe der Überbestimmung auf die

Ergebnisgüte wird untersucht. Die Ergebnisgüte ist weniger von der Zahl als von der Lage der Meßpunkte abhängig. Die kleinstmögliche Überbestimmung ($m = N + 1$) ist dann ausreichend, wenn aus den Spektren die richtigen Wellenlängen selektiert werden.

Zur Auswahl der optimalen Meßpunkte werden zwei Verfahren vorgestellt. Beide berücksichtigen zusätzlich zur Eichmatrix auch die Analysendaten bzw. deren Fehler. Es werden die Wellenlängenkombinationen berechnet, an denen die Fehler in den Ergebniskonzentrationen minimal sind. Die vorausberechneten Fehler stehen mit den praktisch ermittelten Standardabweichungen im Einklang.

Die mit diesen Optimierungsverfahren erzielte Datenreduktion ermöglicht eine schnelle exakte Bestimmung der Komponenten eines Zweikomponentengemisches. Insbesondere für NebenkompONENTEN werden gute Ergebnisse erzielt.

7.2 Ausblick

Für die pharmazeutische Analytik dürften sowohl die vorgestellten Optimierungsverfahren als auch die vollautomatische Arbeitsweise der Meßsysteme von großem praktischem Interesse sein.

Für die Drei- und Mehrkomponenten-Analyse, die in dieser Arbeit nicht behandelt werden, sollte die Festlegung optimaler Arbeitsbedingungen analog den hier vorgestellten Kriterien ebenfalls möglich sein.

8. Anhang

8.1 Meßsysteme

8.1.1 Spektralphotometer PMQ II, Zeiss, mit Monochromator M4Q III und Spaltautomatik (Einstrahlgerät)

Dieses Gerät wurde für manuelle Messungen eingesetzt.

8.1.2 UV-VIS Zweistrahl-Spektrophotometer 124, Hitachi - Perkin-Elmer

Dieses Gerät wurde - nach entsprechender Umrüstung - rechnergesteuert betrieben. Als einziger Umbau war der Austausch des internen Scan-Motors gegen einen Schrittmotor (Fa. Valvo) notwendig, der über ein Schneckenradgetriebe den Monochromatorantrieb übernimmt. Die output-Befehle des Rechners werden in einem speziell entwickelten Interface (S.Ebel, J.Hocke, 1976) decodiert und dienen unmittelbar der Ansteuerung des Motors in Schritt und Richtung. Ein weiteres Kommando aktiviert den Probenwechsler (Modell 48, Coleman Instruments - Perkin-Elmer), der daraufhin automatisch die Küvette leersaugt, spült und mit der nächsten Probe beschickt.

Statt des sonst üblichen Schreibers wurde ein Digitalvoltmeter (Hewlett-Packard 34740 A) angeschlossen, über das der Rechner die analog anstehenden Extinktions- bzw. Transmissionsdaten in digitaler Form als Spannungswert einliest. Nach Eichung des Gerätes auf 0 % T und 100 % T wandelt der Rechner alle anstehenden Werte in die zugehörigen Transmissions- bzw. Extinktionswerte um.

Zu Beginn des Programmablaufs ^{*)} muß dem Rechner die augenblickliche Wellenlänge mitgeteilt werden. Er ist nunmehr in der Lage, durch Mitzählen der Motorschritte jede beliebige Wellenlänge exakt anzusteuern und die Messung durchzuführen.

Bei der hier vorgestellten Gerätekombination wird das UV-Photometer aktiv vom Rechner gesteuert [Literatur zu rechnergesteuerten Systemen: S.N. Denning, H.L.Pardue (1971); D.Sanderson, J.A.Bittikofer, H.L.Pardue (1972); E.C. Toren et al. (1973); U.B.Ranalter, H.Känzig, U.P.Wild (1974); K.R.O'Keefe,

*) Zur detaillierten Beschreibung des Programms siehe 8.3.3

H.V. Malmstadt (1975); J. Hocke (1976); S. Ebel, J. Hocke (1976 u. 1977); E. Büttner (1977)] .

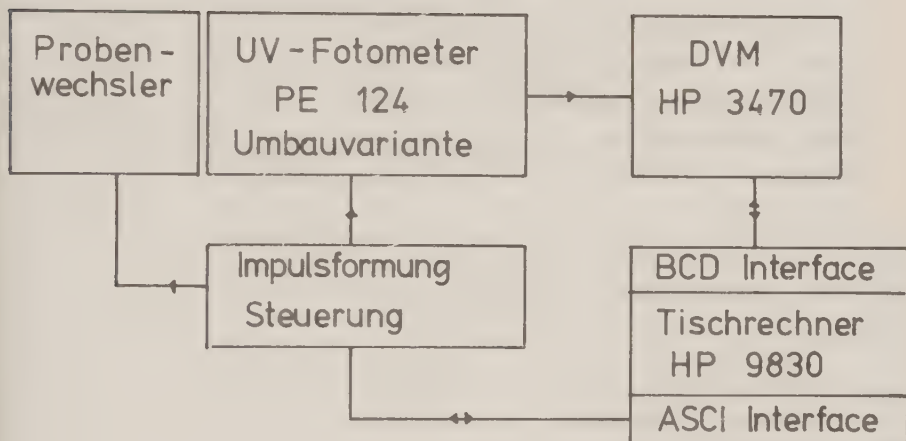


Abb. 21: Gerätekombination PE Model 124.

8.1.3 UV-VIS Zweistrahl-Spektrophotometer Model 575, Perkin-Elmer

Auch dieses Gerät wurde für den vollautomatischen, rechnergesteuerten Betrieb umgerüstet. Hier wird der Monochromatorantrieb von einem internen Schrittmotor ausgeführt; allerdings sind sämtliche Steuerleitungen intern verdrahtet und damit von außen nicht zugänglich. Die zur externen Ansteuerung notwendigen Steuerleitungen (Schrittbefehl, Richtung, dark-cycle-Information) wurden daher mittels einer Steckerverbindung auf die Geräterückseite herausgeführt. Ein ähnlich wie in 8.1.2 beschrieben aufgebautes Interface übernimmt wieder die Umsetzung der

output-Befehle des Rechners in entsprechende Schritt- und Richtungsbefehle, muß aber darüberhinaus noch die dark-cycle-Information verarbeiten. Um die ursprüngliche Betriebsart des Models 575 beizubehalten, dürfen an den Motor nur während der Dunkelphase des Choppers Schrittbefehle gegeben werden. Ein zufällig in die Hellphase fallender Rechnerbefehl geht dabei keineswegs verloren, sondern wird gespeichert und in der nächstfolgenden Dunkelphase ausgeführt. Dasselbe gilt auch beim Filter- und Lampenwechsel vom VIS- zum UV-Bereich. Der Motor stoppt während dieser Zeit, um anschließend sofort wieder rechnersynchron weiterzulaufen. Nach Eingabe der augenblicklichen Wellenlänge steuert der Rechner, wie beim vorigen System, jede beliebige Wellenlänge exakt an. Die Meßwertübernahme erfolgt ebenfalls über ein zwischengeschaltetes Digitalvoltmeter (Hewlett Packard 34740 A).

8.2 Küvetten-Substanzen-Lösungsmittel

Küvetten:

a) Hellma 110 QS-Küvette

Material: Suprasil

Schichttiefe: $10 \text{ mm} \pm 0.01 \text{ mm}$

b) Hellma 178 QS-Ultramikroküvette für kontinuierlichen Durchfluß

Material: Suprasil

Schichttiefe: $10 \text{ mm} \pm 0.01 \text{ mm}$

Volumen: 0.08 ml Kammerinhalt

Substanzen:

Coffein rein, E.Merck, Darmstadt

Coffein, Dr. K.Thomae GmbH., Biberach a.d.Riss

Phenacetin crist., E.Merck, Darmstadt

Acetylsalicylsäure, Bayer AG., Leverkusen

Acetylsalicylsäureanhydrid, Bayer AG., Leverkusen

Methaqualon, L.Heumann & Co., Nürnberg

Pentobarbital-Na, L.Heumann & Co., Nürnberg

Sulfadiazin, L.Heumann & Co., Nürnberg

Trimethoprim, L.Heumann & Co., Nürnberg

Benzoessäure p.a., E.Merck, Darmstadt

PHB-Methylester, E.Merck, Darmstadt

Sulfanilamid, E.Merck, Darmstadt

Lösungsmittel:

jeweils p.a.-Qualität, E.Merck, Darmstadt

8.3 Programmbeschreibungen

8.3.1 Programm DIFF PAR 9

Ermittlung von drei optimalen Wellenlängen für eine Zweikomponenten-UV-Analyse mittels Fehlerfortpflanzung.

1. Aufgabe des Programms

Aus einem digital vorliegenden Analysenspektrum und den entsprechenden Stammspektren werden über Fehlerfortpflanzungsrechnung die Meßpunktkombinationen ermittelt, die den geringsten vorberechneten Fehler im Analysenergebnis aufweisen.

Es werden unabhängig voneinander für jede Substanz die 10 besten Wellenlängenkombinationen berechnet.

Ergebnis der Optimierungsrechnung:

Sollen die Ergebnisse beider Substanzen mit einer Wellenlängenkombination optimiert werden, so muß die gesuchte Dreierkombination in beiden Listen ausgewählter Meßpunktkombinationen auftauchen. Ist das nicht der Fall, so müssen gegebenenfalls die Substanzen getrennt an den jeweils ermittelten Wellenlängen bestimmt werden.

2. Programmsprache ist BASIC.

Aufgeführt sind als Programmlisting die Optimierungsrechnung, die Fehlerberechnung an den einzelnen Wellenlängen und die Umspeicher- und Sortierungsprozeduren. Auf die Programmlistings für die Dateneingabe und Datenausgabe wurde verzichtet, da diese Befehle rechnergebunden sind.

3. Die folgende Beschreibung enthält zunächst ein Flußdiagramm des gesamten Ablaufs. Hierin sind Hinweise auf andere Flußdiagramme (FLUSSD), auf Kommentare (COM) und auf Programmlistings (LIST) enthalten.

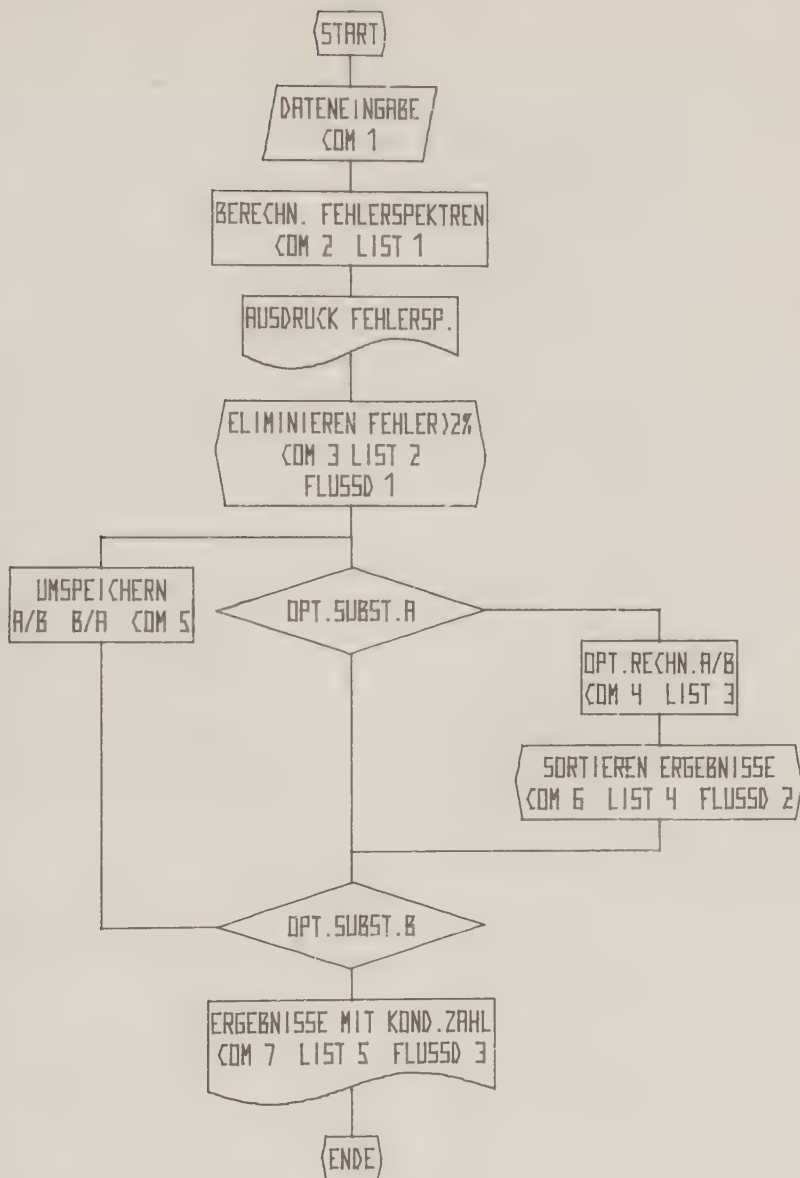


Abb.22: Flußdiagramm DIFF PAR 9.

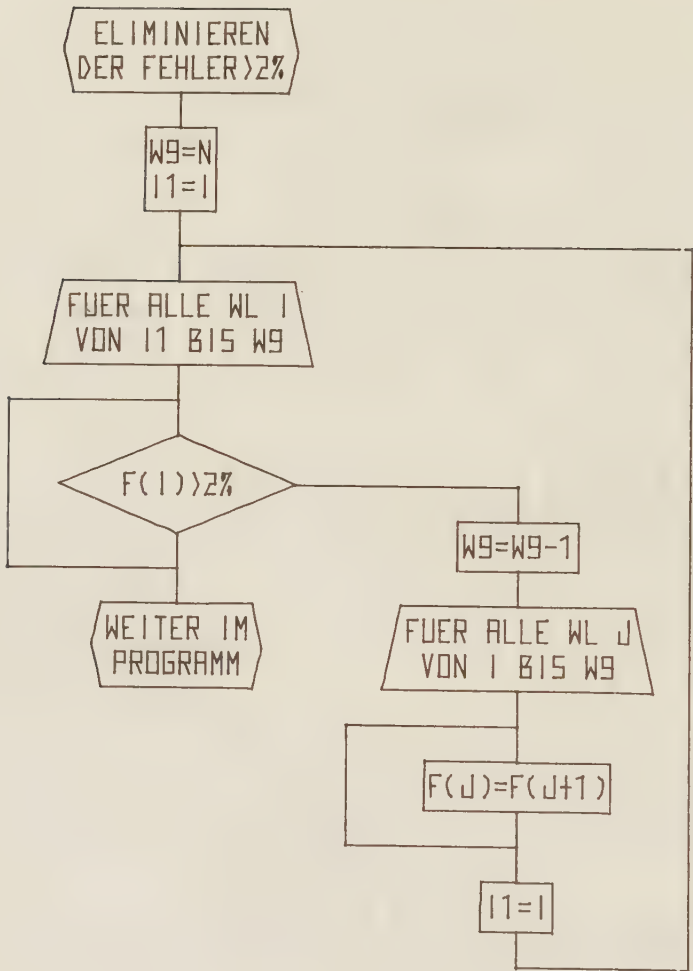


Abb. 23: Flußdiagramm 1.

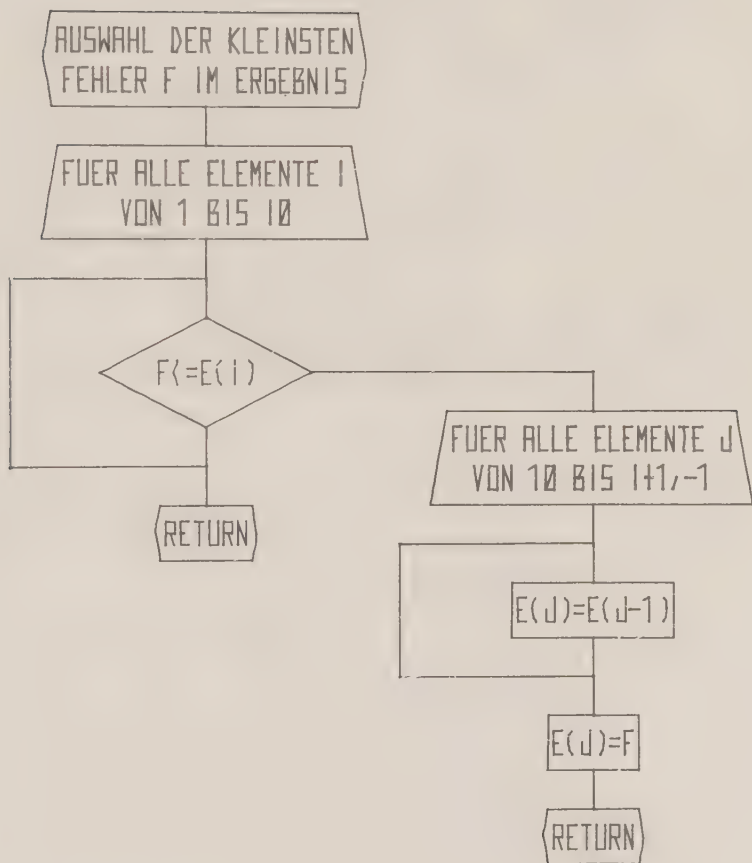


Abb. 24: Flußdiagramm 2 (Unterprogramm SORTIEREN).

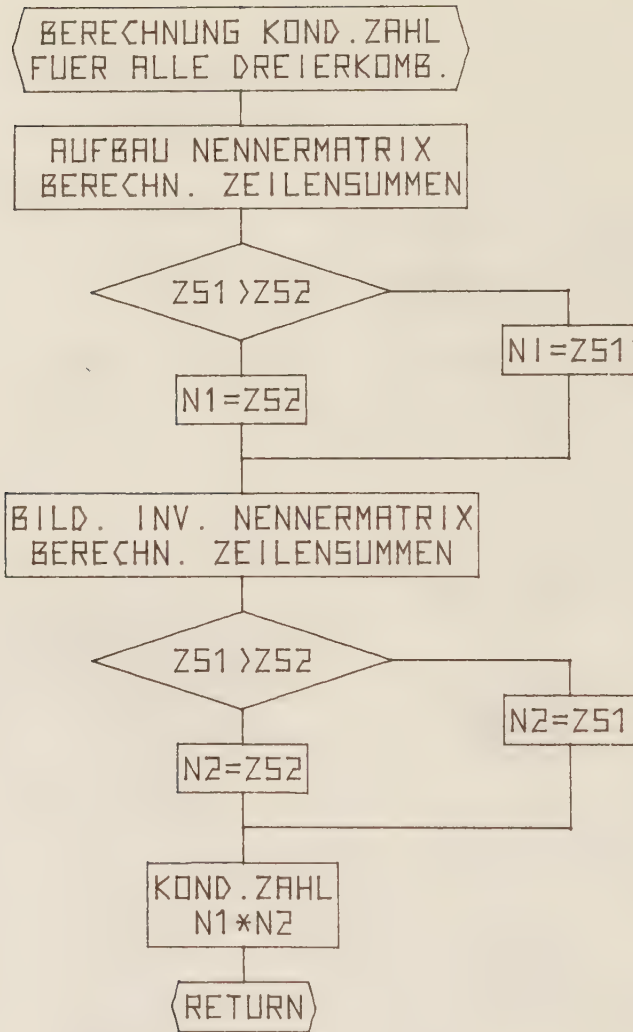


Abb.25: Flußdiagramm 3 (Unterprogramm MATCOND).

COM 1 Dateneingabe

Es werden eingegeben:

Anzahl der Meßpunkte	m
Wellenlängen im gewählten Bereich	λ_i
Stammdaten A	α_i
Stammdaten B	β_i
Volumen der Meßlösungen	V
Konzentrationen der Meßlösungen	
für Eichdaten A	c_A
für Eichdaten B	c_B
Sollkonzentration der Analysenmeßlösung	
an Substanz A	$c_{a,A}$
an Substanz B	$c_{a,B}$
simulierter Fehler in der Wellenlängen- einstellung	$\sigma \lambda$
simulierter Fehler in I_0	σI_0

In diesem Programmteil wird aus den Stammdatenansätzen das Analysenspektrum theoretisch berechnet:

$$E_{ai} = \frac{\alpha_i}{\beta_i} \cdot c_{a,A} + \frac{\beta_i}{\alpha_i} \cdot c_{a,B}$$

Im Programm werden abgespeichert:

α_i in Feld A
 β_i in Feld B
 E_{ai} in Feld D
 λ_i in Feld W

Das Feld I enthält folgende Daten in der aufgeführten Reihenfolge:

Band-Nr; File-Nr; V; c_A ; c_B ; -; $c_{a,A}$; $c_{a,B}$; -; m

Die simulierten Fehler $\sigma \lambda$ und σI_0 werden den Variablen F1 und F2 zugeordnet.

COM 2 Berechnung des Extinktionsfehlers

Für jedes der drei Spektren (Stammspektrum A, B und Analysenspektrum) werden an jeder Wellenlänge die Fehler in der Extinktion vorausberechnet, die durch Simulation von Fehlern während des Meßvorgangs (Wellenlängeneinstellung, Rauschen, Meßverstärker) verursacht werden :

$$\sigma E_{\text{rel}} = \frac{1}{E} \cdot \sqrt{\left(\frac{\partial E}{\partial \lambda}\right)^2 \cdot \sigma_{\lambda}^2 + \left(\frac{\log e}{I_0}\right)^2 \cdot \sigma_{I_0}^2 \cdot (1 + f^2 \cdot 10^{2E})}$$

Der vorausberechnete Fehler entspricht dem maximalen relativen Fehler, der bei der Messung bei gegebenen Einzelfehlern σ_{λ} und σ_{I_0} auftreten kann.

COM 3 Eliminieren von Wellenlängen mit Fehlern $> 2\%$

Ist einer der vorausberechneten Fehler der drei Spektren an einer Wellenlänge $> 2\%$, so wird diese Wellenlänge bei der anschließenden Optimierungsrechnung nicht mit einbezogen.

Die Eliminierung dieser Wellenlängen erfolgt durch Umspeichern der Spektren.

COM 4 Optimierungsrechnung

Durch Kombination aller in die Rechnung einzubeziehenden Meßwellenlängen werden die 10 besten Kombinationen gesucht, die den geringsten Fehler im Ergebnis aufweisen.

Das jeder Dreierkombination zugrundeliegende Gleichungssystem lautet :

$$\begin{vmatrix} \sum \alpha_i^2 & \sum \alpha_i \cdot \beta_i \\ \sum \alpha_i \cdot \beta_i & \sum \beta_i^2 \end{vmatrix} \cdot \begin{vmatrix} c_{a,A} \\ c_{a,B} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \sum E_{ai} \cdot \alpha_i \\ \sum E_{ai} \cdot \beta_i \end{vmatrix} \quad *)$$

*) alle Summen laufen von $i = 1$ bis 3

Dieses Gleichungssystem hat die Lösungen:

$$c_{a,A} = \frac{\sum E_{ai} \cdot \alpha_i \sum \beta_i^2 - \sum \alpha_i \cdot \beta_i \sum E_{ai} \cdot \beta_i}{\sum \alpha_i^2 \sum \beta_i^2 - \sum \alpha_i \cdot \beta_i \sum \alpha_i \cdot \beta_i} = \frac{A}{N} \quad *)$$

$$c_{a,B} = \frac{\sum \alpha_i^2 \sum E_{ai} \cdot \beta_i - \sum \alpha_i \cdot \beta_i \sum E_{ai} \cdot \alpha_i}{N} = \frac{B}{N} \quad *)$$

Die Berechnung des Fehlers im Ergebnis A ($\sigma_{c_{a,A}}$) erfolgt über eine Fehlerfortpflanzungsrechnung durch Differentiation der Ergebnissfunktion nach den Meßparametern.

Meßparameter sind bei jeder Dreierkombination:

3 Meßpunkte für Stammdatens A: $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$

3 Meßpunkte für Stammdatens B: $\beta_1, \beta_2, \beta_3$

3 Meßpunkte des Analysenspektrums: E_{a1}, E_{a2}, E_{a3}

Der Gesamtfehler im Ergebnis ergibt sich somit als

$$\sigma_{c_{a,A}} = \sqrt{\sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial c_{a,A}}{\partial \alpha_i} \right)^2 \cdot \sigma_{\alpha_i}^2 + \sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial c_{a,A}}{\partial \beta_i} \right)^2 \cdot \sigma_{\beta_i}^2 + \sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial c_{a,A}}{\partial E_{ai}} \right)^2 \cdot \sigma_{E_{ai}}^2}$$

Als σ_{ϵ} -Werte dienen die ebenfalls über Fehlerfortpflanzung vorausgerechneten Fehler an den einzelnen Wellenlängen (siehe COM 2).

Die einzelnen Differentiationen sind den folgenden Aufstellungen zu entnehmen:

$$\frac{\partial c_{a,A}}{\partial \alpha_i} = \left(\frac{\partial A}{\partial \alpha_i} \cdot N - \frac{\partial N}{\partial \alpha_i} \cdot A \right) / N^2$$

$$\frac{\partial c_{a,A}}{\partial \beta_i} = \left(\frac{\partial A}{\partial \beta_i} \cdot N - \frac{\partial N}{\partial \beta_i} \cdot A \right) / N^2$$

$$\frac{\partial c_{a,A}}{\partial E_{ai}} = \frac{\partial A}{\partial E_{ai}} / N$$

*) A = Zähler der Ergebnissfunktion $c_{a,A}$; B = Zähler der Ergebnissfunktion $c_{a,B}$; N = Nenner der Ergebnissfunktionen

$$\frac{\partial A}{\partial \alpha_i} = E_{ai} \cdot \sum \beta_j^2 - \beta_i \cdot \sum E_{aj} \cdot \beta_j \quad *)$$

$$\frac{\partial A}{\partial \beta_i} = 2 \beta_i \cdot \sum E_{aj} \cdot \alpha_j - \alpha_i \cdot \sum E_{aj} \cdot \beta_j - E_{ai} \cdot \sum \alpha_j \cdot \beta_j$$

$$\frac{\partial A}{\partial E_{ai}} = \alpha_i \cdot \sum \beta_j^2 - \beta_i \cdot \sum \alpha_j \cdot \beta_j$$

$$\frac{\partial N}{\partial \alpha_i} = 2 \alpha_i \cdot \sum \beta_j^2 - 2 \beta_i \cdot \sum \alpha_j \cdot \beta_j$$

$$\frac{\partial N}{\partial \beta_i} = 2 \beta_i \cdot \sum \alpha_j^2 - 2 \alpha_i \cdot \sum \alpha_j \cdot \beta_j$$

COM 5 Umspeichern der Daten

Analog zu $\sigma c_{a,A}$ wird das optimale Ergebnis für die Substanz B berechnet. Hierzu muß die Ergebnisgleichung für $c_{a,B}$ nach den Meßparametern differenziert werden. Aus Kapazitätsgründen werden im Anschluß an die Optimierungsberechnung für $c_{a,A}$ alle Daten für Substanz A (Eichdaten A, vorausberechnete Fehler des Eichspektrums A) mit den entsprechenden Daten für die Substanz B vertauscht, so daß mit der Ergebnisgleichung für $c_{a,A}$ nun das Ergebnis $\sigma c_{a,B}$ berechnet werden kann. Auf diese Weise kann der Programmteil für die Berechnung des Fehlers im Ergebnis $c_{a,A}$ auch für die Berechnung des Fehlers im Ergebnis $c_{a,B}$ herangezogen werden.

COM 6 Unterprogramm SORTIEREN

In diesem Unterprogramm werden aus allen möglichen Dreierkombinationen die 10 Kombinationen mit den geringsten Ergebnisfehlern ermittelt (siehe LIST 4 und FLUSSD 2).

*) $\sum$ steht für $\sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^3$

COM 7 Berechnung der Konditionszahl

Um auszuschließen, daß unter den ausgewählten Wellenlängenkombinationen solche sind, die eine schlecht konditionierte Matrix ergeben, wird die Konditionszahl nach der Zeilensummen-Norm berechnet. Es wird die Kombination ausgewählt, die einen möglichst kleinen vorausberechneten Fehler und zugleich eine möglichst kleine Konditionszahl hat.

LIST 1

```
320 Q1=10000
330 Q2=(LGT(2.718)) ^2
340 Q3=10000
350 FOR I=2 TO I[9]-1
360 F3=((J[I-1]-J[I+1])/(W[I-1]-W[I+1])*F1) ^2
370 L3=((G[I-1]-G[I+1])/(W[I-1]-W[I+1])*F1) ^2
380 K3=((H[I-1]-H[I+1])/(W[I-1]-W[I+1])*F1) ^2
390 Q4=10^(2*J[I])
400 F4=Q2/Q3*F2*F2*(1+Q4/F5)
410 Q4=10^(2*G[I])
420 L4=Q2/Q3*F2*F2*(1+Q4/F5)
430 Q4=10^(2*H[I])
440 K4=Q2/Q3*F2*F2*(1+Q4/F5)
450 F[I]=SQR(F3+F4)
460 L[I]=SQR(L3+L4)
470 K[I]=SQR(K3+K4)
480 NEXT I
```

LIST 2

```
750 W9=I[9]
760 I1=1
770 FOR I=I1 TO W9
780 IF F[I]/J[I] >= 0.02 OR K[I]/H[I] >= 0.02 OR L[I]/G[I] >= 0.02 THEN
790 GOTO 950
800 W9=W9-1
810 FOR J=I TO W9
820 F[J]=F[J+1]
830 K[J]=K[J+1]
840 L[J]=L[J+1]
850 G[J]=G[J+1]
860 H[J]=H[J+1]
870 J[J]=J[J+1]
880 W[J]=W[J+1]
890 A[J]=A[J+1]
900 B[J]=B[J+1]
910 D[J]=D[J+1]
920 NEXT J
930 I1=I
940 GOTO 770
950 NEXT I
```

LIST 3

```

1050 MAT S=CON
1060 MAT S=(32767)*S
1070 FOR I=1 TO W9-2
1080 FOR J=I+1 TO W9-1
1090 FOR K=J+1 TO W9
1100 P[1,1]=G[I]^2+G[J]^2+G[K]^2
1110 P[2,2]=H[I]^2+H[J]^2+H[K]^2
1120 P[1,2]=P[2,1]=G[I]*H[I]+G[J]*H[J]+G[K]*H[K]
1130 Q[1]=G[I]*J[I]+G[J]*J[J]+G[K]*J[K]
1140 Q[2]=H[I]*J[I]+H[J]*J[J]+H[K]*J[K]
1150 N=DET(P)
1160 A2=P[1,1]*Q[2]-P[2,1]*Q[1]
1170 A1=Q[1]*P[2,2]-Q[2]*P[1,2]
1180 N1=2*G[I]*(H[J]^2+H[K]^2)-2*H[I]*(G[J]*H[J]+G[K]*H[K])
1190 N2=2*G[J]*(H[I]^2+H[K]^2)-2*H[J]*(G[I]*H[I]+G[K]*H[K])
1200 N3=2*G[K]*(H[I]^2+H[J]^2)-2*H[K]*(G[I]*H[I]+G[J]*H[J])
1210 N4=2*H[I]*(G[J]^2+G[K]^2)-2*G[I]*(G[J]*H[J]+G[K]*H[K])
1220 N5=2*H[J]*(G[I]^2+G[K]^2)-2*G[J]*(G[I]*H[I]+G[K]*H[K])
1230 N6=2*H[K]*(G[I]^2+G[J]^2)-2*G[K]*(G[I]*H[I]+G[J]*H[J])
1240 Z1=J[I]*(H[J]^2+H[K]^2)-H[I]*(J[J]*H[J]+J[K]*H[K])
1250 Z2=J[J]*(H[I]^2+H[K]^2)-H[J]*(J[I]*H[I]+J[K]*H[K])
1260 Z3=J[K]*(H[I]^2+H[J]^2)-H[K]*(J[I]*H[I]+J[J]*H[J])
1270 Z4=2*H[I]*(J[J]*G[J]+J[K]*G[K])-G[I]*(J[J]*H[J]+J[K]*H[K])
1280 Z4=Z4-J[I]*(G[J]*H[J]+G[K]*H[K])
1290 Z5=2*H[J]*(J[I]*G[I]+J[K]*G[K])-G[J]*(J[I]*H[I]+J[K]*H[K])
1300 Z5=Z5-J[J]*(G[I]*H[I]+G[K]*H[K])
1310 Z6=2*H[K]*(J[I]*G[I]+J[J]*G[J])-G[K]*(J[I]*H[I]+J[J]*H[J])
1320 Z6=Z6-J[K]*(G[I]*H[I]+G[J]*H[J])
1330 Z7=G[I]*(H[J]^2+H[K]^2)-H[I]*(G[J]*H[J]+G[K]*H[K])
1340 Z8=G[J]*(H[I]^2+H[K]^2)-H[J]*(G[I]*H[I]+G[K]*H[K])
1350 Z9=G[K]*(H[I]^2+H[J]^2)-H[K]*(G[I]*H[I]+G[J]*H[J])
1360 F1=((Z1*N-N1*A1)/(N^2))^2*L[I]
1370 F2=((Z2*N-N2*A1)/(N^2))^2*L[J]
1380 F3=((Z3*N-N3*A1)/(N^2))^2*L[K]
1390 F4=((Z4*N-N4*A1)/(N^2))^2*K[I]
1400 F5=((Z5*N-N5*A1)/(N^2))^2*K[J]
1410 F6=((Z6*N-N6*A1)/(N^2))^2*K[K]
1420 F7=((Z7/N)^2)*F[I]
1430 F8=((Z8/N)^2)*F[J]
1440 F9=((Z9/N)^2)*F[K]
1450 F=SQR(F1+F2+F3+F4+F5+F6+F7+F8+F9)
1460 GOSUB 2050
1470 NEXT K
1480 NEXT J
1490 NEXT I

```

LIST 4

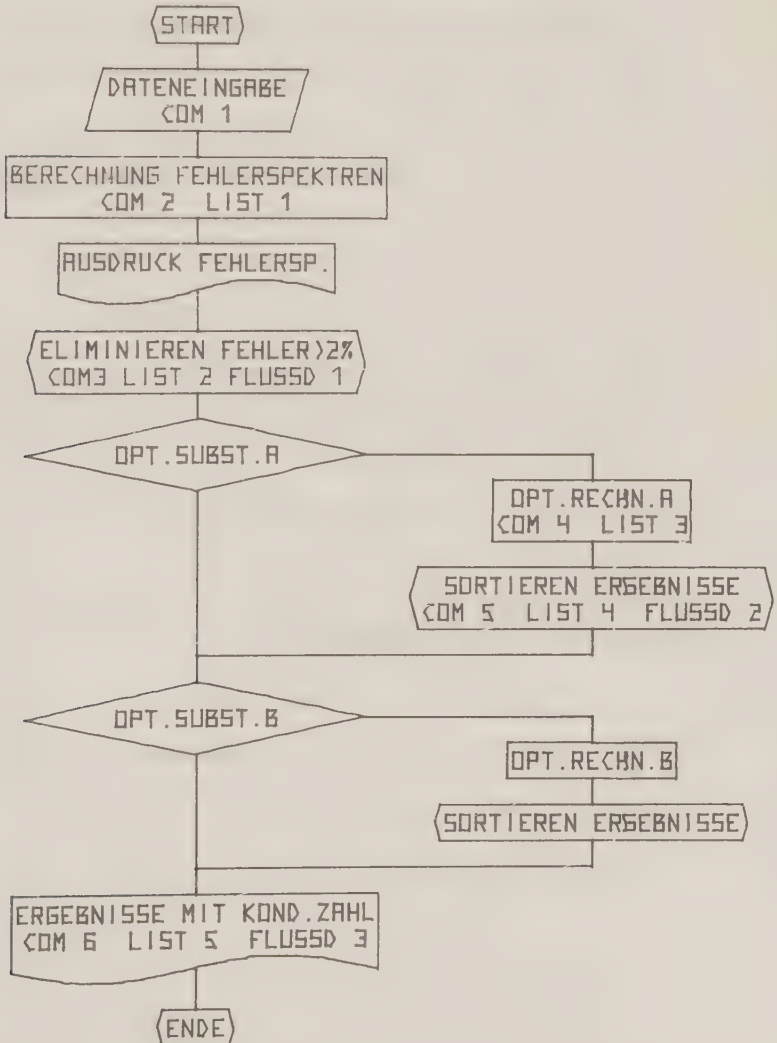
```
2050 FOR O1=1 TO 10
2060 IF F <= S[O1,4] THEN 2090
2070 NEXT O1
2080 RETURN
2090 FOR O2=10 TO O1+1 STEP -1
2100 FOR M9=1 TO 4
2110 S[O2,M9]=S[O2-1,M9]
2120 NEXT M9
2130 NEXT O2
2140 S[O2,1]=I
2150 S[O2,2]=J
2160 S[O2,3]=K
2170 S[O2,4]=F
2180 RETURN
```

LIST 5

```
2190 P[1,1]=(A[V1]/Q1)^2+(A[V2]/Q1)^2+(A[V3]/Q1)^2
2200 P[2,2]=(B[V1]/Q1)^2+(B[V2]/Q1)^2+(B[V3]/Q1)^2
2210 P[1,2]=P[2,1]=A[V1]/Q1*B[V1]/Q1+A[V2]/Q1*B[V2]/Q1+A[V3]/Q1*B[V3]
2220 N1=ABSP[1,1]+ABSP[1,2]
2230 N2=ABSP[2,1]+ABSP[2,2]
2240 IF N1>N2 THEN 2260
2250 N1=N2
2260 MAT P=INV(P)
2270 N2=ABSP[1,1]+ABSP[1,2]
2280 N3=ABSP[2,1]+ABSP[2,2]
2290 IF N2>N3 THEN 2310
2300 N2=N3
2310 RETURN
```

8.3.2 Programm FEHLFORT DE

Der Programmablauf entspricht weitgehend dem Ablauf des Programms DIFF PAR 9. Allerdings werden hier die Optimierungsrechnungen für die beiden Substanzen getrennt in verschiedenen Programmteilen durchgeführt. Das folgende Flußdiagramm skizziert den Ablauf von FEHLFORT DE.



COM 1 = COM 1 DIFF PAR 9

COM 2 = COM 2 DIFF PAR 9

COM 3 = COM 3 DIFF PAR 9

COM 4 Optimierungsrechnung

Durch Kombination aller in die Rechnung einzubeziehender Meßwellenlängen werden die 10 besten Kombinationen gesucht, die den geringsten Fehler im Ergebnis aufweisen.

Der Berechnung der Fehler in den Ergebnissen ($c_{a,A}$ und $c_{a,B}$) liegt folgendes Prinzip zugrunde:

$$\begin{vmatrix} \Sigma \alpha_i^2 & \Sigma \alpha_i \cdot \beta_i \\ \Sigma \alpha_i \cdot \beta_i & \Sigma \beta_i^2 \end{vmatrix} \cdot \begin{vmatrix} \sigma_{c_{a,A}} \\ \sigma_{c_{a,B}} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \Sigma \sigma_{E_{ai}} \cdot \alpha_i \\ \Sigma \sigma_{E_{ai}} \cdot \beta_i \end{vmatrix}$$

Dieses zur Lösung führende Gleichungssystem wird mit Wichtungsfaktoren versehen, die sich aus den Stammdaten mit deren Fehlermöglichkeiten ergeben.

Wichtungsfaktoren für die Optimierung der Substanz A:

$$p_{A_i} = \left(\frac{1}{\sigma_{\alpha_i \text{ rel}}} \right)^2$$

Wichtungsfaktoren für die Optimierung der Substanz B:

$$p_{B_i} = \left(\frac{1}{\sigma_{\beta_i \text{ rel}}} \right)^2$$

Damit lautet das Gleichungssystem z.B. für die Optimierung der Substanz

$$A: \begin{vmatrix} \Sigma \alpha_i^2 \cdot p_{A_i}^2 & \Sigma \alpha_i \cdot \beta_i \cdot p_{A_i}^2 \\ \Sigma \alpha_i \cdot \beta_i \cdot p_{A_i}^2 & \Sigma \beta_i^2 \cdot p_{A_i}^2 \end{vmatrix} \cdot \begin{vmatrix} \sigma_{c_{a,A}} \\ \sigma_{c_{a,B}} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} \Sigma \sigma_{E_{ai}} \cdot \alpha_i \cdot p_{A_i}^2 \\ \Sigma \sigma_{E_{ai}} \cdot \beta_i \cdot p_{A_i}^2 \end{vmatrix}$$

Innerhalb jeder Dreierkombination von Wellenlängen werden alle Variationen von positiven und negativen Extinktionsfehlern berechnet. Es ergeben sich folgende Möglichkeiten:

	σE_{ai}	σE_{aj}	σE_{ak}
1.	+	+	+
2.	-	+	+
3.	+	-	+
4.	+	+	-
5.	-	-	+
6.	-	+	-
7.	+	-	-
8.	-	-	-

Da die jeweiligen Lösungen der Möglichkeiten 1 - 4 mit denen der Möglichkeiten 5 - 8 betragsmäßig identisch sind, reduzieren sich die Variationen der Fehlerberechnung innerhalb jeder Dreierkombination auf 4. Der Mittelwert der Ergebnisse der vier Variationen dient als Maß für den Fehler σc_a im Analysenergebnis an diesen Wellenlängen. Die 10 minimalen Ergebnisfehler aller Kombinationen werden in einem Unterprogramm ermittelt (siehe COM 5).

Für die Optimierung des Analysenergebnisses B wird die Rechnung in gleicher Weise, jedoch mit Wichtungsfaktoren aus den Eichdaten B durchgeführt.

COM 5 = COM 6 DIFF PAR 9

COM 6 = COM 7 DIFF PAR 9

LIST 3

```

1322 MAT S=CCN
1332 MAT S=(32767)*S
1342 MAT T=CON
1352 MAT T=(32767)*T
1362 FOR I=1 TO W9-2
1372 FOR N=I+1 TO W9-1
1382 FOR M=N+1 TO W9
1392 S1=S2=0
1402 GOTO (I5=0) OF 1552
1412 P[1,1]=G[I]^2*L[I]+G[N]^2*L[N]+G[M]^2*L[M]
1422 P[2,2]=H[I]^2*L[I]+H[N]^2*L[N]+H[M]^2*L[M]
1432 P[1,2]=P[2,1]=G[I]*H[I]*L[I]+G[N]*H[N]*L[N]+G[M]*H[M]*L[M]
1442 MAT P=INV(P)
1452 FOR O1=1 TO 4
1462 Q[1]=G[I]*(F[I]*(2*(O1#2)-1))*L[I]+G[N]*(F[N]*(2*(O1#3)-1))*L[N]
1472 Q[1]=Q[1]+G[M]*(F[M]*(2*(O1#4)-1))*L[M]
1482 Q[2]=H[I]*(F[I]*(2*(O1#2)-1))*L[I]+H[N]*(F[N]*(2*(O1#3)-1))*L[N]
1492 Q[2]=Q[2]+H[M]*(F[M]*(2*(O1#4)-1))*L[M]
1502 MAT R=P*Q
1512 S1=S1+(ABS(R[1])/4)
1522 S2=S2+(ABS(R[2])/4)
1532 NEXT O1
1542 GOSUB 2102
1552 S1=S2=0
1562 GOTO (I6=0) OF 1722
1572 P[1,1]=G[I]^2*K[I]+G[N]^2*K[N]+G[M]^2*K[M]
1582 P[2,2]=H[I]^2*K[I]+H[N]^2*K[N]+H[M]^2*K[M]
1592 P[1,2]=P[2,1]=G[I]*H[I]*K[I]+G[N]*H[N]*K[N]+G[M]*H[M]*K[M]
1602 MAT P=INV(P)
1612 FOR O1=1 TO 4
1622 Q[1]=G[I]*(F[I]*(2*(O1#2)-1))*K[I]+G[N]*(F[N]*(2*(O1#3)-1))*K[N]
1632 Q[1]=Q[1]+G[M]*(F[M]*(2*(O1#4)-1))*K[M]
1642 Q[2]=H[I]*(F[I]*(2*(O1#2)-1))*K[I]+H[N]*(F[N]*(2*(O1#3)-1))*K[N]
1652 Q[2]=Q[2]+H[M]*(F[M]*(2*(O1#4)-1))*K[M]
1662 MAT V=P*Q
1672 S2=S2+(ABS(V[2])/4)
1682 S1=S1+(ABS(V[1])/4)
1692 NEXT O1
1702 GOSUB 2252
1712 S1=S2=0
1722 NEXT M
1732 NEXT N
1742 NEXT I

```

8.3.3 Programm STEUERUNG

Automatische Datenaufnahme für eine Zweikomponenten-UV-Analyse, Messung an drei Wellenlängen mit Berechnung der Ergebniskonzentrationen.

1) Aufgabe des Programms

Das Programm ermöglicht die vollautomatische Datenaufnahme für eine Zweikomponenten-UV-Analyse an drei Wellenlängen. Die Aufnahme der Eichdatensätze und des Untergrundkorrekturspektrums kann wiederholt erfolgen, während die Analysendaten nur je einmal vermessen werden. Die Lösung der resultierenden überbestimmten Gleichungssysteme erfolgt jeweils im Anschluß an die Analysenmessung über Matrixinversion.

2) Programmsprache ist BASIC

Aufgeführt sind als Programmlisting alle Rechenwege und Steuerfunktionen, nicht aber Dateneingabe und Datenausgabe, da diese Befehle rechnergebunden sind.

3) Die folgende Beschreibung enthält zunächst ein Flußdiagramm des gesamten Ablaufs. Hierin sind Hinweise auf Kommentare (COM) und auf Programmlistings (LIST) enthalten.

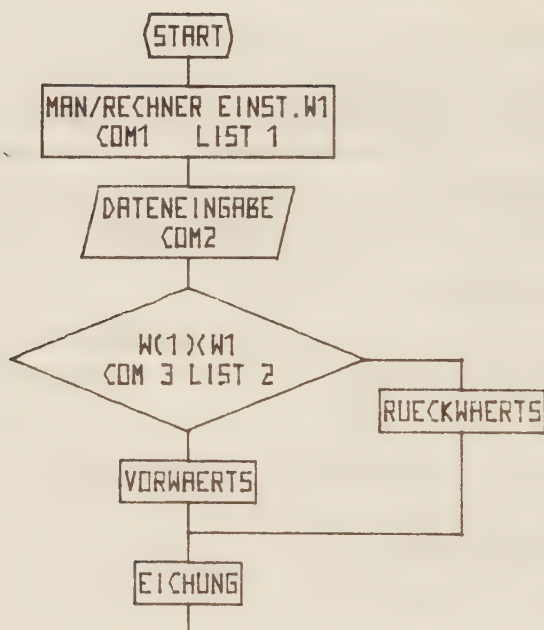


Abb. 27: Flußdiagramm STEUERUNG, Teil 1.

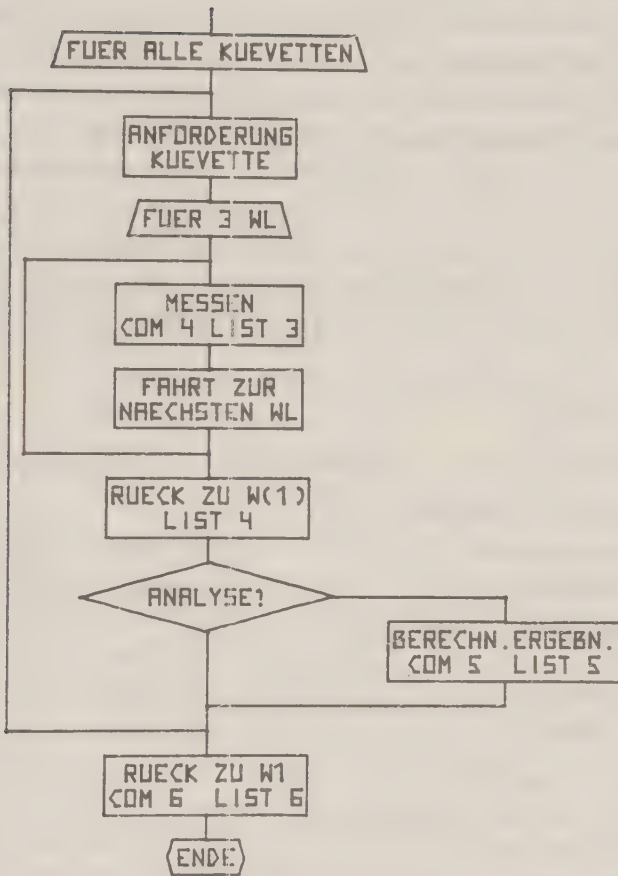


Abb.27a: Flußdiagramm STEUERUNG, Teil 2.

COM 1 Ansteuern der definierten Wellenlänge

Das Meßsystem soll zu Beginn der Messung auf einer definierten Wellenlänge (z.B. 200 nm) stehen, zu der es nach Beendigung der Messung auch wieder zurückkehrt. Das Getriebe des Schrittmotors soll im Eingriff für die Vorwärtsrichtung stehen. Ist dies bei Beginn der Messung (bedingt durch äußere Einflüsse) nicht gegeben, so erfolgt die notwendige Neueinstellung zunächst manuell über die Geräte-Tastatur.

Es wird eine Wellenlänge etwas unterhalb der definierten Wellenlänge angefahren. Nach Umschalten auf Rechnerbetrieb und Starten des Programms wird die Wellenlängenskala schrittweise in Vorwärtsrichtung bewegt. Ist die definierte Wellenlänge erreicht, wird die Stop-Taste gedrückt und mit "Continue" im Programm fortgefahren.

COM 2 Dateneingabe

Als Kenndaten der Analyse werden eingegeben bzw. vom Band eingelesen :

Konzentration der Meßlösung

für Eichdaten A c_A (Variable I[4])

für Eichdaten B c_B (Variable I[5])

Sollkonzentration der Analysenmeßlösung

an Substanz A $c_{a,A}$ (Variable I[7])

an Substanz B $c_{a,B}$ (Variable I[8])

Weiter wird eingegeben :

Zahl der Meßreihen für Stammdaten und Untergrundkorrektur

n_E (Variable M)

Zahl der Analysen

n (Variable Z9)

File-Nr., ab der die Analysendaten gespeichert werden sollen *)

Variable F9

Wellenlängen, an denen die Spektren vermessen werden sollen

$\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$

(Variablen W[1], W[2], W[3])

*) Wird keine Dokumentation der Analysendaten auf Magnetband gewünscht, erhält die Variable F9 die Wertzuweisung Null .

COM 3 Ansteuern der Startwellenlänge $W[1]$

In diesem Programmteil wird die Startwellenlänge $W[1]$ angesteuert. Nach Erreichen der Startwellenlänge steht das Getriebe des Schrittmotors in jedem Fall im Eingriff für die Vorwärtsrichtung. Die Schritimpulse, die zum Erreichen der Startwellenlänge und gegebenenfalls zum Ausgleichen des Getriebespiels notwendig waren, werden auf der Variablen J3 mitgezählt. Dies ist notwendig für die Ansteuerung der definierten Wellenlänge nach Beendigung der Messung.

COM 4 Aufnahme der Daten

Jede Meßlösung wird an den drei vorgegebenen Wellenlängen vermessen.

Die Meßlösungen werden nach folgendem Schema angefordert :

- n_E x Leerwertmessung zur Untergrundkorrektur
- n_E x Eichspektrum der Substanz A
- n_E x Eichspektrum der Substanz B
- n Analysen, die jeweils einmal vermessen werden.

An jeder Wellenlänge wird der Meßwert zwecks Rauschglättung zehnmal übernommen. Die gemittelten Meßwerte werden - nach Umrechnung von mV auf Extinktion und Korrektur mit dem Untergrundspektrum - folgendermaßen integer-Feldern zugeordnet :

Untergrundkorrekturdaten	Feld C
Eichdaten Substanz A (α_i)	Feld A
Eichdaten Substanz B (β_i)	Feld B
Analysendaten (E_{ai})	Feld D

COM 5 Berechnung der Ergebniskonzentrationen

Die Ergebniskonzentrationen werden nach dem Prinzip der kleinsten Fehlerquadratsummen berechnet. Die Lösung des Gleichungssystems erfolgt über Matrixinversion

$$c = S^{-1} \cdot a$$

S^{-1} = inverse Eichmatrix

a = Analysenvektor

c = Konzentrationsvektor

Die Eichdatenmatrix **S**, deren Elemente ausschließlich aus Produktsummen der Eichdaten bestehen, bleibt für alle Analysen einer Meßreihe gleich. Sie wird nur einmal, und zwar bei der ersten Analyse erstellt. Bei der ersten Analyse erfolgt auch der Ausdruck der gesamten Daten, während für alle weiteren Analysen nur die Ergebniskonzentrationen $c_{a,A}$ und $c_{a,B}$ ausgegeben werden.

COM 6 Rückfahrt zur definierten Wellenlänge

Da während des Programmablaufs alle ausgeführten Schritimpulse mitgezählt werden, ist eine exakte Ansteuerung der definierten Wellenlänge nach Beendigung der Meßreihe möglich.

LIST 1

```
68 DISP "GERAET BITTE AUF 200 NM EINSTELLEN"  
78 WAIT 1000  
88 REM ANSTEUERN DER DEFINIERTEN WELLENLAENGE  
98 OUTPUT (1,*) 3  
108 WAIT 500  
118 OUTPUT (1,*) 31  
128 WAIT 1000  
138 GOTO 118
```

LIST 2

```
668 IF W1>W[1] THEN 738  
678 S9=(W[1]-W1)*37.5  
688 FOR N=1 TO S9  
698 OUTPUT (1,*) 31  
708 J3=J3+1  
718 NEXT N  
728 GOTO 878  
738 OUTPUT (1,*) 2  
748 WAIT 500  
758 S9=(W1-W[1])*37.5+75  
768 FOR N=1 TO S9  
778 OUTPUT (1,*) 21  
788 J3=J3+1  
798 NEXT N  
808 WAIT 500  
818 OUTPUT (1,*) 3  
828 WAIT 500  
838 FOR N=1 TO 75  
848 OUTPUT (1,*) 31  
858 J3=J3-1  
868 NEXT N
```

LIST 3

```
1128 I[9]=3
1138 FOR I=1 TO I[9]
1148 WAIT 500
1158 A=0
1168 FOR Q1=1 TO 10
1178 ENTER (3,*)Q,M9
1188 A=A+M9
1198 NEXT Q1
1208 A=(A/M/10-G3)/G2
1218 GOTO 1+(K=2)+2*(K=3)+3*(K>3) OF 1228,1248,1268,1288
1228 C[I]=C[I]+A*10000
1238 GOTO 1298
1248 A[I]=A[I]+A*10000
1258 GOTO 1298
1268 B[I]=B[I]+A*10000
1278 GOTO 1298
1288 D[I]=A*10000
1298 GOTO 1+(I=3)+(I=3 AND K=Z9+3) OF 1308,1368,1508
1308 FOR J=1 TO 37.5*(W[I+1]-W[I])
1318 OUTPUT (1,*)31
1328 J2=J2+1
1338 NEXT J
1348 NEXT I
```

LIST 4

```
1368 OUTPUT (1,*)2
1378 WAIT 500
1388 FOR I=1 TO J2+75
1398 OUTPUT (1,*)21
1408 NEXT I
1418 OUTPUT (1,*)3
1428 WAIT 500
1438 FOR I=1 TO 75
1448 OUTPUT (1,*)31
1458 NEXT I
```

LIST 5

```
1618 MAT N=ZER
1628 FOR I=1 TO I[9]
1638 K[1]=A[I]/10000
1648 K[2]=B[I]/10000
1658 FOR Z=1 TO 2
1668 FOR S=1 TO 2
1678 N[Z,S]=K[Z]*K[S]+N[Z,S]
1688 NEXT S
1698 NEXT Z
1708 NEXT I
1718 MAT N=INV(N)
1728 MAT K=ZER
1738 FOR I=1 TO I[9]
1748 K[1]=K[1]+D[I]/10000*A[I]/10000
1758 K[2]=K[2]+D[I]/10000*B[I]/10000
1768 NEXT I
1778 M[1]=I[4]/I[7]
1788 M[2]=I[5]/I[6]
1798 MAT L=N*K
1808 T1=K-3
1818 I[2]=(F9+K-4)*F8
1828 IF T1>2 THEN 1848
1838 PRINT "          % ";A$;"          % ";B$
1848 WRITE (15,1858) I[2],T1,L[1]*M[1]*100,L[2]*M[2]*100
1858 FORMAT 2F6.0,2F12.3
1868 IF NOT F8 THEN 1888
1878 STORE DATA I[2]
```

LIST 6

```
2018 GOTO (W[3]>W1)+2*(W[3]<W1) OF 2028,2138
2028 OUTPUT (1,*)2
2038 WAIT 500
2048 FOR I=1 TO J4+(2*(W1<W[1])-1)*J3+75
2058 OUTPUT (1,*)21
2068 NEXT I
2078 OUTPUT (1,*)3
2088 WAIT 500
2098 FOR I=1 TO 75
2108 OUTPUT (1,*)31
2118 NEXT I
2128 GOTO 2168
2138 FOR I=1 TO J4-J2
2148 OUTPUT (1,*)31
2158 NEXT I
2168 REM SYSTEM STEHT WIEDER AUF STARTWELLENLAENGE
2178 END
```

Zeichenerklärung

I_0	Intensität des eingestrahnten Lichtes
I	Intensität des durchgelassenen Lichtes
E	Extinktion
T	Transmission
E_{ai}	Extinktion der Analyse an der Wellenlänge λ_i
E_{ni}	Normextinktion an der Wellenlänge λ_i
$A, B, C \dots N$	Substanzen A, B, C .. N
N	Zahl der Komponenten einer Analyse
S	Laufindex für die Komponenten einer Analyse von 1 bis N
c	Konzentration (allgemein)
c_n	Normkonzentration
$c_{A \dots N}$	Konzentration der Eichlösung an Substanz A .. N
c_a	Konzentration der Analyse
$c_{a,A \dots N}$	Konzentration der Analyse an Substanz A .. N
$\alpha_i, \beta_i, \gamma_i \dots$	Extinktion der Eichlösung für Substanz A, B, C ... an der Wellenlänge λ_i
m	Zahl der Meßwellenlängen
i	Laufindex für die Meßwellenlängen von 1 bis m
n	Zahl der Analysen
n_E	Zahl der Eichmeßreihen
d	Schichttiefe der Küvette
φ	Fehler (allgemein)
φ_p	Fehler als Funktion eines Parameters p
σ	Standardfehler (theoretisch formuliert oder numerisch berechnet)
σ_p	Standardfehler als Funktion eines Parameters p
s	experimentell gefundener Fehler, ausgedrückt als Standard- abweichung (berechnet nach A.A.Clifford, 1973)
s_{rel}	relative Standardabweichung
$\bar{x}$	Mittelwert
ϵ	molarer Extinktionskoeffizient, allgemein: Elemente der Eichmatrix oder der Einheitsmatrix, doppelt indiziert ($\epsilon_{i,j}$)

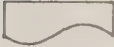
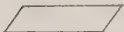
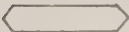
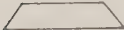
Vektoren und Matrizen werden mit fettgedruckten Buchstaben bezeichnet, und zwar: Vektoren mit kleinen Buchstaben, Matrizen mit großen Buchstaben.

- E** Einheitsmatrix
- S** Stammdaten- (Eich) matrix
- S**⁻¹ Inverse zur Stammdatenmatrix
- c** Konzentrationsvektor (Lösungsvektor)
- a** Analysenvektor (rechte Seite des Gleichungssystems)

Allgemeine Betrachtungen werden an einer Matrix **A** mit den Elementen α_{ij} bzw. einem Gleichungssystem **A x = b** durchgeführt.

Elemente von inversen Matrizen werden mit * bezeichnet (z.B. α_{ij}^*).

In den Flußdiagrammen werden folgende Symbole verwendet :

- | | |
|--|---|
|  | für alle Rechenanweisungen |
|  | für bedingte Sprünge (waagerechter Ausgang: ja, richtig; senkrechter Ausgang: nein, falsch) |
|  | für Ausgabe an den Drucker |
|  | für Dateneingabe |
|  | für Marken und Kommentare |
|  | für Schleifeneingänge |

Der Punkt wird für alle unbedingten Sprünge und als Ausgangs- bzw. Endpunkt von Verzweigungen verwendet.

Literaturverzeichnis

- 1) G.H.Ayres, Anal.Chem., 21, 652 (1949)
- 2) R.P.Bauman, Appl. Spectroscopy, 13, 156 (1959)
- 3) E.Büttner, G.I.T.Fachz.Lab., 21, 193 (1977)
- 4) H.Bundgaard, C.Bundgaard, J.Pharm.Pharmac., 25, 593 (1973)
- 4a) H.Bundgaard, J.Pharm.Pharmac., 26, 18 (1974)
- 5) M.J.Cho, M.Pernarowsky, J.Pharm.Sci., 59, 1333 (1970)
- 6) A.W.Clayton, R.E.Thiers, J.Pharm.Sci., 55, 404 (1966)
- 7) A.A.Clifford, "Multivariate Error Analysis", Applied Sciences Publishers, Ltd., London (1973)
- 8) R.Cole, J.Optical Soc.Am., 41, 38 (1950)
- 9) S.N.Deming, H.L.Pardue, Anal.Chem., 43, 192 (1971)
- 10) S.Ebel, U.Steffens, unveröffentlichte Ergebnisse (1974)
- 11) S.Ebel, J.Hocke, unveröffentlichte Ergebnisse (1976)
- 12) S.Ebel, J.Hocke, Chromatographia, 9, 78 (1976)
- 13) S.Ebel, unveröffentlichte Ergebnisse
- 14) S.Ebel, J.Hocke, Chromatographia, 10, 123 (1977)
- 15) D.K.Faddejew, W.N.Faddejewa, "Numerische Methoden der linearen Algebra", R.Oldenbourg, München u.Wien (1975)
- 16) J.D.Fitzpatric, M.Orchin, J.Org.Chem., 22, 1177 (1957)
- 17) E.Glaser, unveröffentlichte Ergebnisse
- 18) A.L.Glenn, J.Pharm.Pharmac., 12, 595 (1960)
- 19) N.T.Gridgeman, Anal.Chem., 24, 445 (1952)
- 20) H.v.Halban, J.Eisenbrand, Proc.Roy.Soc., 116, 153 (1927)
- 21) R.T.Hamilton, Ind.Eng.Chem., Anal.Ed., 16, 123 (1944)
- 22) Heilmeyer, "Spektrophotometry in Medicine", Adam Hilger, Ltd., London (1943)
- 23) I.S.Herschberg, Z.Anal.Chem., 205, 180 (1964)
- 24) R.C.Hirt, F.T.King, R.G.Schmitt, Anal.Chem., 26, 1270 (1954)
- 25) C.F.Hiskey, Anal.Chem., 33, 927 (1961)
- 26) T.R.Hogness, F.P.Zscheile, A.E.Sidwell Jr., J.Phys.Chem., 41, 404 (1939)
- 27) T.Honkawa, Anal.Letters, 8, 901 (1975)

- 28) T.Honkawa, Anal.Letters, 9, 839 (1976)
- 29) J.D.Ingle Jr., S.R.Crouch, Anal.Chem., 44, 1375 (1972)
- 30) J.D.Ingle Jr., Anal.Chem., 45, 861 (1973)
- 31) A.Junker, G.Bergmann, Z.Anal.Chem., 272, 267 (1974)
- 32) A.Junker, G.Bergmann, Z.Anal.Chem., 278, 191 (1976)
- 33) H.Kaiser, Z.Anal.Chem., 260, 252 (1972)
- 34) H.Kienitz, Z.Anal.Chem., 164, 80 (1958)
- 35) B.Klabu n, M.Kuck, H.Goetz, Z.Anal.Chem., 265, 12 (1973)
- 36) J.Krácmar, J.Krácmarová, Pharmazie, 26, 1 (1971)
- 37) R.Ludwig, "Methoden der Fehler- und Ausgleichsrechnung", Vieweg, Braunschweig (1969)
- 38) G.Machek, F.Lorenz, Sci.Pharm., 30, 25 (1962)
- 39) G.Machek, F.Lorenz, Sci.Pharm., 31, 17 (1963)
- 40) G.Machek, F.Lorenz, Sci.Pharm., 32, 185 (1964)
- 41) G.Machek, F.Lorenz, Sci.Pharm., 34, 213 (1966)
- 42) G.E.Mieling et al., Anal.Chem., 48, 1686 (1976)
- 43) K.R.O'Keefe, H.V.Malmstadt, Anal.Chem., 47, 707 (1975)
- 44) H.L.Pardue, T.E.Hewitt, M.J.Milano, Clin.Chem., 20, 1028 (1974)
- 45) M.Pernarowsky, A.M.Knevel, J.E.Christian, J.Pharm.Sci., 50, 946 (1961)
- 46) E.Pillion, M.R.Rogers, A.M.Kaplan, Anal.Chem., 33, 1715 (1961)
- 47) U.B.Ranaldler, H.Känzig, U.P.Wild, Appl.Spectroscopy, 28, 45 (1974)
- 48) A.Ringbohm, Z.Anal.Chem., 115, 332 (1939)
- 49) D.Robinson, Z.Anal.Chem., 23, 273 (1951)
- 50) L.D.Rothman, S.R.Crouch, J.D.Ingle Jr., Anal.Chem., 47, 1226 (1975)
- 51) D.Sanderson, J.A.Bittikofer, H.L.Pardue, Anal.Chem., 44, 1934 (1972)
- 52) H.Sattler, Pharm.Ztg., 39, 1395 (1966)
- 53) R.C.Shah, P.V.Raman, B.M.Shah, J.Pharm.Sci., 52, 167 (1963)
- 54) S.Shibata, Angew.Chem., 22, 750 (1976)
- 55) E.I.Stearns, "Analytical Absorption Spectroscopy", M.G.Mellon, Ed., John Wiley & Sons (1950)
- 56) J.B.Stenlake, A.G.Davidson, Anal.Letters, 6, 313 (1973)
- 57) H.Spät, "Algorithmen für elementare Ausgleichsmodelle", R.Oldenbourg, München u. Wien (1973)

- 58) J.Stoer, "Einführung in die numerische Mathematik", Springer,
Berlin u.a.O. (1972)
- 59) J.Topping, "Fehlerrechnung", Verlag Chemie, Weinheim (1971)
- 60) E.C.Toren et al., Clin.Chem., 19, 1114 (1973)
- 61) F.Twyman, G.F.Loithian, Proc.Phys.Soc., 116, 643 (1933)
- 62) B.Unterhalt, A.M.Wahbi, Z.Anal.Chem., 275, 32 (1975)
- 63) A.M.Wahbi, Pharmazie, 26, 291 (1971)
- 64) H.Weitkamp, R.Barth, "Einführung in die Infrarotspektrophotometrie",
Georg Thieme, Stuttgart (1976)
- 65) E.T.Whittaker, G.Robinson, "The Calculus of Observations",
Backie and Son, London (1924)
- 66) "Enzyklopädie Mathematik", Harri Deutsch, Frankfurt u. Zürich (1972).

Lebenslauf

- 17.6.1950 geboren in Köln als Tochter des Ltd.Regierungsdirektors
Wolfgang Seyfferth und seiner Frau Johanna geb. Craus
- 1956-1960 Besuch der Grundschule in Köln-Ehrenfeld
- 1960-1965 Besuch des neusprachlichen Mädchengymnasiums
Liebfrauenschule in Köln-Lindentahl
- 1968 Umzug nach Bensberg bei Köln, Umschulung auf das
Albertus-Magnus-Gymnasium in Bensberg
- Mai 1968 Reifeprüfung
- Mai - August
1968 Packerin im Bastei-Verlag in Berg.Gladbach
- 1968-1970 Praktikantenzeit in der Hirsch-Apotheke in Berg.Gladbach
- 1970-1973 Studium der Pharmazie an der Philipps-Universität
in Marburg
- Oktober 1973 Pharmazeutisches Staatsexamen, Vermählung mit dem
Apotheker Klaus-Jürgen Steffens
- Okt. 1973 -
Febr. 1974 Fortgeschrittenen-Praktikum am Institut für Pharmazie und
Lebensmittelchemie der Philipps-Universität Marburg.
Anstellung als wissenschaftliche Hilfskraft
- Febr. 1974 Beginn der Dissertation unter Leitung von Herrn
Prof.Dr. S.Ebel
- Okt. 1976 Anstellung als wissenschaftliche Angestellte.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren :

Böhme, Dehnicke, Dimroth, Ebel, Eger, Haake, Hartke, Kating, Krieglstein,
List, Nultsch, Otto, Schiff, Schmitz, Seitz, Unterhalt, Walcher, Willuhn,
Wolter.

